

2K15-4 コリネ型細菌のグルタミン酸過剰生成におけるミコール酸の影響

○橋本 賢一, 赤澤 恒軌, 根岸幸太郎, 川崎 寿,
中松 亘
(東電大院・工・物質工)

[目的] コリネ型細菌のグルタミン酸 (Glu) 過剰生成は ODHC(2-oxoglutarate dehydrogenase complex)活性の低下に伴う代謝fluxの変化に基づくことが明らかにされてきた。さらに、我々はこれまでの実験により Glu 過剰生成に対して脂肪酸が大きな影響を及ぼしていると考えられる結果を得てきた。そこでコリネ型細菌に特有の細胞表層構造で、脂肪酸より合成されるミコール酸層に注目し、以下の実験を行なった。

[方法及び結果] 菌株として *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 株を用いた。ピオチン制限、あるいはTween 40添加による各Glu過剰生成条件にて、ある種の脂肪酸を添加すると Glu 過剰生成が抑制される。この条件に対して細胞壁のアラビノガラクトン層に作用し、ミコール酸層の形成を阻害することが知られている ethambutol を添加したところ、Glu 生成量の回復が見られた。この事からミコール酸含量の変化はコリネ型細菌が Glu を過剰生成するための条件の一つである可能性が考えられる。そこで我々は Glu 生成条件における細胞表層構造が Glu 過剰生成に及ぼす影響について検討を行なった。その結果について報告する。

Influence of mycolic acids on L-glutamate overproduction of coryneform bacteria

○Kenichi HASHIMOTO, Koki AKAZAWA, Kotaro NEGISHI, Hisashi KAWASAKI, Tsuyoshi NAKAMATSU
(Dept. Mat. Sci. Eng., Grad. Sch. Eng., Tokyo Denki Univ.)

Key words *Corynebacterium glutamicum*, L-glutamate, mycolic acid

2K16-1 情報工学的手法を用いたアセトン・ブタノール (ABE) 発酵の代謝解析

○進藤 秀彰¹, 田代 幸寛¹, 小林 元太¹, 関口 達也²,
花井 泰三¹, 岡本 正宏¹, 園元 謙二¹
(¹九大院・農, ²前橋工大・工)

アセトン・ブタノール (ABE) 発酵は酸生成期とソルベント生成期を有し代謝経路が複雑である。そこで ABE 発酵の代謝解析および発酵の効率化を目的とし、我々が開発したシミュレーター (BEST-KIT) によりモデル化を行なった。パラメータ決定には *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 を初発グルコース濃度 0.298 M で回分培養したときの実験値を用い、モデルの検証には初発グルコース濃度 0.0358, 0.0620, 0.119 M で回分培養したときの実験値を用いた。C. *acetobutylicum* ATCC824¹ の代謝経路を基に、有機酸再同化が CoA Transferase (CoAT) のみを介するモデルを構築し、実験値と比較した。その結果、計算値は実験値と大きく異なった。次に有機酸再同化が CoAT および有機酸生成経路の逆経路を介するモデルを構築したところ実験値と計算値は定性的に一致した。しかし、モデルによる計算値ではグルコース枯渇後の有機酸再同化、ソルベント生産が停止しなかった。そこで次にエネルギー代謝を考慮し、グルコース濃度 0.00300 M 以下でエネルギー生産、消費が停止するモデルを構築した。その結果、有機酸再同化、ソルベント生産が停止し、それぞれの実験値と定性的に一致した。以上の結果より、エネルギー生産、消費を考慮した ABE 発酵の代謝モデルの構築に成功した。また、有機酸再同化に有機酸生成経路の逆経路が大きく関与することが示唆され、本モデルが ABE 発酵の代謝解析に有効な手法であることが示唆された。

Metabolic analysis of ABE fermentation using BEST-KIT

○Hideaki SHINTO¹, Yukihiko TASHIRO¹, Genta KOBAYASHI¹, Tatsuya SEKIGUCHI², Taizo HANAI¹, Masahiro OKAMOTO¹, Kenji SONOMOTO¹
(¹Fac. Agric., Kyushu Univ., ²Maebashi Inst Technol)

Key words ABE fermentation, BEST-KIT, metabolic analysis

2K15-5 Functional role of granule-associated *phaP* and *phaR* genes on biosynthesis and granular morphogenesis of scl-PHA

○Min-Chul SEO, Byung-Geun SONG, Young-Mi JUNG, Yong-Hyun LEE
(Dept. Genet. Eng., Coll. Nat. Sci., Kyungpook Natl. Univ., Daegu 702-701, Korea)

The PHB accumulation increased up from 16% to 57% in a recombinant *E. coli* harboring the *phbCAB* operon after transformation of the granule-associated *phaP* and *phaR* genes due to the stabilization of PHB granules rather than the direct effect on PHB biosynthesis-related enzymes. The morphology of PHB granules was also varied distinctly depending on the transformed *phaP* and *phaR* genes. The transcription levels of the granule-associated *phaP* and *phaR* genes in *R. eutropha* were regulated through the transformation of the *phbC* genes from *R. eutropha* and *A. latus* into the PHB synthase negative mutant. The granular morphogenesis of scl-PHA was found to be closely associated with the mRNA transcription levels of the *phaP* and *phaR* genes, especially with the ratio of *phaP/phaR* genes. The phasin protein encoded by the *phaP* gene increased the number of granules, while the PhaR protein of the *phaR* gene enlarged the size of the scl-PHA granules in *R. eutropha*

Functional role of granule-associated *phaP* and *phaR* genes on biosynthesis and granular morphogenesis of scl-PHA

○Min-Chul SEO, Byung-Geun SONG, Young-Mi JUNG, Yong-Hyun LEE
(Dept. Genet. Eng., Coll. Nat. Sci., Kyungpook Natl. Univ., Daegu 702-701, Korea)

Key words granule-associated gene, granular morphogenesis, *phaP* and *phaR*, *Ralstonia eutropha*

2K16-2 乳酸デヒドロゲナーゼ遺伝子を欠損させた乳酸菌の代謝解析

○永久 圭介¹, 黒平 智行², KRISNA Agustin²,
清水 浩¹, 塩谷 捨明²
(¹阪大院・情報・バイオ情報, ²阪大院・工・応生工)

【目的】乳酸菌は乳酸の生成に伴って NADH を酸化することで細胞内の酸化還元バランスを保っているが、培地中の乳酸の蓄積は pH の低下を招き、乳酸菌自身の増殖が阻害される。乳酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (*ldh*) を欠損させ乳酸生成を止めれば、pH の低下や増殖阻害が抑えられると思われるが、それに伴う NADH の酸化も起こらなくなるので酸化還元のバランスが問題となる。そこで、*ldh* 遺伝子欠損株の細胞内代謝フラックス変化を解析することを目的とした。

【方法・結果】乳酸菌 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL1403 株の *ldh* 遺伝子欠損株を好氣的に坂口フラスコで培養したところ、野生株に比べて乳酸生成は抑えられることから pH の低下も抑えられ、最終到達 OD の値は増加した。次にジャーファーメンターを用いて好氣的に培養した結果、乳酸はほとんど生産されず、野生株に比べて pH の低下が抑えられることがわかった。野生株、欠損株とも乳酸とエタノールはほとんど生産されなかったが、アセトイン、酢酸については、欠損株の生産量が野生株に比べて多く、乳酸へ向かう代謝が欠損株では酢酸やアセトインへ流れていることが確認された。また、欠損株の酸素消費量が野生株に比べて多いことから、欠損株では NADH の酸化を NADH oxidase により行い、酸化還元バランスを調節していることが示唆された。

Metabolic analysis of lactate dehydrogenase gene deficient mutant in lactic acid bacteria

○Keisuke NAGAHISA¹, Tomoyuki KUROHIRA², Agustin KRISNA², Hiroshi SHIMIZU¹, Suteaki SHIOYA²
(¹Dept. Bioinfo. Eng., Grad. Sch. IST, Osaka Univ., ²Dept. Biotech., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.)

Key words metabolic analysis, lactate dehydrogenase, lactic acid bacteria