

Brevibacterium flavum におけるリシン、トレオニン生産株の育種と代謝調節機構との関連

(味の素・中央研)・椎尾 勇

アミノ酸、ヌクレオチドの生合成が、これら代謝産物による強いフィードバック制御を受けているため、微生物は、一般に、これらを蓄量蓄積することはない。したがって、これらを生産する菌株の育種に際しては、その生合成制御機構を明らかにし、それを指標として方針を立てることが、かえって近道ではないかと考えられる。そこで、例として、グルタミン酸生産株、*Brevibacterium flavum* からのリシン、トレオニン生産株の育種と、その生合成系の調節機構との関連において紹介したい。

この苗の調節機構は次の如くである。すなわち、トレオニン合成は、Homoserine dehydrogenase のトレオニン阻害により、リシン合成は Aspartokinase のリシンとトレオニンによる相乗阻害により制御され、両合成系の分岐点では、トレオニン合成が優先的に進行し、これは、上記の阻害によって制御されている。

したがって、これらのアミノ酸を生産させるには、夫々、その制御機構を遺伝的に改変すればよい。すなわち、リシン生産株を、リシンアナログ、S-(2-アミノエチル)-システイン (AEC) とトレオニンの存在による生育阻害に耐性の変異株として選抜した。このような優秀株は、グルコース 10% 培地で 35 g/l の L-Lys. HCl を生産した。又、この変異株の Aspartokinase は予想通り、リシンとトレオニンによる相乗阻害に不感性となっていた。

トレオニン生産株は、同様に、トレオニンアナログ、 α -アミノ- β -ヒドロキシ吉草酸 (AHV) 耐性株として得られ、14 g/l の L-トレオニンを生産した。又、この菌株の Homoserine dehydrogenase は予期したように、トレオニン阻害に不感性となっていた。Aspartokinase は、その制御に関し何ら変化していないのに、トレオニンが蓄量生成する理由は、リシン、トレオニン合成の分岐点で、トレオニン合成が優先されるため、苗体内リシンレベルは低くっており、そのため Aspartokinase は相乗阻害をうけない状態にあると考えられる。これについては、AEC、AHV 両方に耐性の変異株、リシン要求性 AHV 耐性株が上記の AHV 耐性株と同程度しかトレオニンを生産しないことから明かである。しかし、Homoserine dehydrogenase のトレオニン阻害に対する感性がかなり残っている AHV 耐性株では、Aspartokinase における制御がトレオニン生産に影響を示した。

次に、リシンを生産させる方法として、Aspartokinase がリシン、トレオニン相乗阻害をうけないように、トレオニンの苗体内レベルを下げることを考えられる。これを遺伝的変異でやるには、たとえば、トレオニン合成系の Homoserine dehydrogenase の活性レベルを下げればよく、調節機構がわかるように、これはトレオニン、メタオニン感受性変異株として得られる。優秀株は、20 g/l の L-Lys. HCl を生産した。

又人工的にトレオニンレベルを下げる方法としては、二つあり、一つはトレオニン合成系の Homoserine dehydrogenase、Homoserine kinase をメタオニンにより、リプレスする方法であるが、この方法では、酵素が約 1/4 残存し、完全に制御できないため、生成するリシン量も 5 g/l に止まる。もう一つの方法は、トレオニンを要求する変異株を使

シンポジウム(代謝調節—II遺伝学)

用し、培地に添加するトレオニン量を制限する方法で、Homoserine dehydrogenase 欠失株で 34 g/l, Homoserine kinase 欠失株で 23 g/l の L-lys. HCl を生産した。後者はプロットの直前の中間体、ホモセリンをも蓄積し、それに相当する量だけ、リシンの生産が少い。

以上の例のように、調節機構が明確に推定できる場合、生産株の育種の方は自ずか明らかであり、実際、予期した結果がえられる。(但し、念のため付け加えておくが、上述の代謝調節機構はこれら生産菌の育種当時、明確になっておらず、したがって、その当時の育種の思想と、上の記載とは必ずしも一致しない)。