



Innovative Metabolic Pathway Design for Efficient L-Glutamate Production by Suppressing CO₂ Emission

炭酸ガス排出の抑制化による効率的なL-グルタミン酸生産のための革新的な代謝経路設計と構築

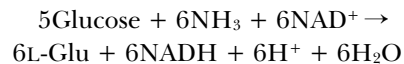
(JBB, Vol. 103, No. 3, 262-269, 2007)

知念 秋人¹・Yuri I. Kozlov²・原 吉彦¹・泉井 裕¹・安枝 寿^{1*}

L-グルタミン酸は、うま味調味料であるL-グルタミン酸ナトリウム (MSG) の生産に重要なアミノ酸である。 *Corynebacterium glutamicum* によるL-グルタミン酸生成は1950年代に発見¹⁾されて以来、その生産性を向上させるべく突然変異法などを駆使して生産株が育種され、周知のごとく工業的なグルタミン酸発酵が成立している。その年間生産量は約200万トンとも推定され、名実ともにグルタミン酸発酵は日本発の代表的な発酵産業の一つである。では、そのL-グルタミン酸の発酵生成効率はどこまで高められるのであろうか？ コリネ型細菌において、グルコースからのL-グルタミン酸合成は、解糖系とTCA回路の一部の反応系を経てグルタミン酸脱水素酵素により行われる。したがって、その全体の反応式は、 $\text{Glucose} + \text{NH}_3 + 3\text{NAD}^+ \rightarrow \text{L-Glu} + 3\text{NADH} + 3\text{H}^+ + \text{CO}_2$ となる。この式からわかるように、通常の代謝経路によるL-グルタミン酸生産の最大理論モル収率は100% (重量収率では81.7%)、つまりグルコース1モルからは1モルの炭酸ガス排出を伴いながら1モルのL-グルタミン酸が生成する。この生産効率は、反応系に投入するグルコースが菌体のいかなる成分へも変換されずにすべてが理想的にL-グルタミン酸へ酵素化学的に変換された場合に達成できる値である。したがって、従来の生産菌育種では、この数値を目指してあらゆる努力を尽くしてきたことになるし、同時にこの数値は決して越えることのできない“限界点”でもあったわけである。

筆者らは、L-グルタミン酸生産法の基礎的研究として、新たなL-グルタミン酸の生成経路をデザインすることで上述の最大収率値の壁を打破することに挑戦した。その着眼点は炭酸ガス (CO₂) 排出の削除であった。L-グルタミン酸生成でのCO₂固定はピルビン酸カルボキシラーゼ反応であるが、一方、CO₂発生はイソクエン酸脱水素酵素反応とピルビン酸脱水素酵素 (PDH) 反応の2箇所である。そこで本研究では、理論的には正味のCO₂排出を伴わないグルコースからの画期的なL-グルタミン酸合成経路の創製を目指した。すなわちCO₂を発生するPDH反応経路のバイパスとしてホスホケトラーゼ (PKT) の触媒する反応をL-グルタミン酸生成経路に組

み入れることを発案した。つまりは、ペントースリン酸経路の酵素とホスホトランスアセチラーゼの反応系にPKT反応が組み込まれると、CO₂排出を伴わずにフルクトース6-リン酸からアセチル-CoAが供給できるのである。そしてこのPKT反応系が機能した理想的なグルコースからのL-グルタミン酸生成では、5モルのグルコースから、なんと6モルのL-グルタミン酸が合成可能となる。



本反応系では最大理論モル収率は一気に跳ね上がり120% (重量収率では98.0%) となる。筆者らは、この新規代謝経路をL-グルタミン酸生産菌へ応用した。なお、PKTは乳酸菌のペントースリン酸経路やビフィズス菌でのフルクトース6-リン酸側路の一部を形成する酵素²⁾である。そこでビフィズス菌からPKTをコードする *xfp* 遺伝子を単離し、L-グルタミン酸を生産するように改変したコリネ型細菌の中で適切に発現させた。その株で、*xfp* 遺伝子の機能的発現を確認したのち、生産菌を精密にバッチ培養しL-グルタミン酸の生産性を検定したところ、*xfp* 遺伝子の有無によらず両生産菌は同等の生育とグルコース消費を示したが、*xfp* 遺伝子を発現させた生産株の方が、対照株よりもL-グルタミン酸の生産収率が高く、同時に排出されるCO₂量の抑制が観察できたのである。今回の結果から筆者らはグルタミン酸発酵菌の基盤研究において、論理的設計による代謝工学手法にて革新的な育種が達成できたと考えている。

最近、L-グルタミン酸の排出担体と思われる因子が同定され、長年謎とされてきたグルタミン酸発酵の成立機作に関しても重要な知見が得られた³⁾。そして2008年は「うま味」としてMSGが発見されて100周年にあたるが、この機会にL-グルタミン酸の製法に関する画期的な研究成果も得られたことは大変意義深く思う次第である。

- 1) Kinoshita, S. *et al.*: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **3**, 193 (1957).
- 2) Meile, L. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **183**, 2929 (2001).
- 3) Nakamura, J. *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 4491 (2007).

* 著者紹介 ¹味の素株式会社 (主席研究員・部長) E-mail: hisashi_yasueda@ajinomoto.com
²味の素ジェネティカ研究所 (AGRI)