

# バイオメディア

## 大腸菌の炭素カタボライト抑制解除

秋田 紘長

バイオマスは、使用により大気中の二酸化炭素量を増加させないだけでなく、近年では企業イメージ向上の観点からも有効利用が進んでいる。また、大腸菌は、遺伝子操作が容易であり、解糖系をはじめとしたさまざまな代謝経路が詳細に解明されていることから、種々の化学製品生産株が作製され、産業利用されている。たとえば、イソブチレンやイソプロピルアルコール、イソプロピレン、コハク酸、ピルビン酸などの化学品が発酵生産されている<sup>1)</sup>。特にコハク酸は、年間7.7万トン程度が大腸菌を用いて生産されており、生産量は増大傾向にある<sup>1)</sup>。一方で、これらの発酵生産では、トウモロコシやサトウキビなどの可食性バイオマスから調製した糖化液を使用しているため、需要増大による価格の高騰や食料不足を招くことが懸念されている。それらの背景を受け、現在では、食料と競合しない木質系バイオマスなどの非可食性バイオマスから調製した糖化液の使用が検討されている<sup>1)</sup>。木質系バイオマスには、樹種によって成分組成が異なるものの、一般にセルロースが40～50%、ヘミセルロースが10～30%、リグニンが20～40%の範囲で含まれている。すなわち、それらを糖化すると、グルコースの他にキシロースやマンノース、アラビノースなど複数種の糖が混在した糖化液が得られる。ところが、混合糖を大腸菌に与えた場合、グルコースのみを選択的に代謝し、グルコースを代謝し終えるまでは、その他の糖を代謝しない炭素カタボライト抑制と呼ばれる遺伝子発現調節機構が存在する<sup>2)</sup>。そのため、木質系バイオマスから調製した糖化液を用いた発酵生産では、生産性や収率が低下する。よって、大腸菌の炭素カタボライト抑制の解除が重要となる。

大腸菌における炭素カタボライト抑制の代表的な例としては、グルコースによる *lacZYA* 遺伝子オペロンの発現抑制がある<sup>2)</sup>。 *lacZYA* 遺伝子オペロンは、ラクトースリプレッサー (LacI) と転写活性化因子 cAMP 受容体タンパク質 (Crp) により制御される。グルコースとラクトースが共存する場合、グルコースによるアデニル酸シクラーゼ活性の阻害に伴い cAMP が生成されないため、転写を活性化させる Crp-cAMP 複合体が形成されない。また、LacI がラクトースオペレーターへ結合する。これらの作用により、 *lacZYA* mRNA の合成は負の制御を受けている。一方、ラクトースのみが存在する場合、cAMP の生成により Crp-cAMP 複合体が形成し、細胞中に取り込まれたラクトースはアロラクトースに変換される。さらに、アロラクトースが LacI に結合すること

でラクトースオペレーターへの結合が阻害され、 *lacZYA* mRNA の合成によりラクトースが代謝される。この Crp-cAMP 複合体は、ラクトース以外の糖代謝関連遺伝子の発現にも関与する。また、アラビノースと転写調節因子 AlaC による *araBAD* 遺伝子オペロンの発現抑制も大腸菌内で確認される炭素カタボライト抑制のひとつである<sup>2)</sup>。

炭素カタボライト抑制の解除法については、糖の取り込みを担うタンパク質の遺伝子に対して、破壊または変異導入を施し、その遺伝子の働きを著しく低下させる方法が取られている。代表的な例としては、 *pstG* 遺伝子の破壊があげられる<sup>3)</sup>。 *pstG* 遺伝子は、グルコースの選択的な細胞内取り込みを担う細胞膜タンパク質であるホスホトランスフェラーゼ系酵素の一種をコードしている。そのため、 *pstG* 遺伝子を破壊したコハク酸生産株では、グルコースとキシロースの同時消費によるコハク酸の生産が確認されている<sup>3)</sup>。また、 *PstG* の発現は、転写因子 Mlc の影響を受けて低下する。Mlc をコードする *mlc* 遺伝子の発現を調節するプロモーターに変異導入すると、Mlc の大量発現が促され、それに起因した *PstG* の発現低下により炭素カタボライト抑制が解除される<sup>4)</sup>。この炭素カタボライト抑制解除株を利用した、混合糖からのイソブチルアルコールの生産も報告されている<sup>4)</sup>。一方、上述の通り、Crp-cAMP 複合体は、相当数の代謝関連遺伝子の転写も調節している。変異型 Crp を発現する大腸菌では、グルコースに依存して、複数の代謝関連遺伝子の発現量が上昇し、細胞内の NADPH 濃度が高くなる<sup>5)</sup>。また、細胞内の NADPH 濃度上昇は、キシロース還元酵素を活性化し、キシロース消費を高めることが確認されている<sup>5)</sup>。

大腸菌の炭素カタボライト抑制は、長年の研究により多くの遺伝子発現調節機構が明らかにされているが<sup>2)</sup>、その解除法については、詳細に解明されている方法が少ない。今後、新たな解除法を確立するとともに、木質系バイオマスを利用して、多くの化学品が発酵生産されることが望まれる。

- 1) 世界のバイオ化学品市場総覧, シード・プランニング社 (2013).
- 2) Kremling, A. *et al.*: *Trends Microbiol.*, **23**, 2 (2015).
- 3) Liu, R. *et al.*: *Bioresour. Technol.*, **149**, 84 (2013).
- 4) Nakashima, N. and Tamura, T.: *J. Biosci. Bioeng.*, **114**, 1 (2012).
- 5) Khankal, R. *et al.*: *J. Biol. Eng.*, **3**, 13 (2009).