

講演番号：2E1a06

講演日時：3月25日 10:33～ 1号館 E1 会場

窒素固定細菌を用いた大気中窒素を由来とする L-グルタミン酸発酵法の改良

Improved L-glutamate fermentation from aerial nitrogen using nitrogen-fixing bacteria

○吉留 大輔¹、日高 真誠¹、伊藤 有亮^{1,2}、古園 さおり^{1,3}、西山 真^{1,3} (1東大院・農生科、²キッコマン株式会社、³東大・微生物連携機構)

○ Daisuke YOSHIDOME¹, Makoto HIDAKA¹, Yusuke Ito^{1,2}, Saori KOSONO^{1,3}, Makoto NISHIYAMA^{1,3} (1Grad. Sch. Agri. & Life Sci., Utokyo, ²Kikkoman Corporation, ³CRIIM, Utokyo)

現行の L-グルタミン酸 (Glu) の発酵生産は、Haber-Bosch 法で合成したアンモニアを窒素源とするためエネルギー消費の点から問題点が多い。我々は昨年度の大会で、窒素固定細菌 *Klebsiella oxytoca* NG13 が *Corynebacterium glutamicum* のクエン酸合成酵素の発現 (CgCS 株)、NG13 のクエン酸輸送体の強化 (CitS 株)、およびそれらを組み合わせること (CgCS+CitS 株) によって、グルコースとクエン酸 (各 7.5 g/L) を炭素源とした培地中で、大気中窒素を唯一の窒素源として Glu を生産することを発表した。今回は、その最大生産量 (CgCS+CitS 株 : 0.15 g/L) を大幅に向上させることに成功した。まず、φ18 試験管から φ90 シャーレでの培養に変更し、大気中窒素の供給を強化したところ、CgCS+CitS 株の Glu 生産量は 0.6 g/L まで増大した。この培養において、CgCS+CitS 株は最初に旺盛なグルコース消費、高い窒素固定能発揮、Glu 生産を示すが、グルコース枯渇後には窒素固定能は消失し Glu を消費することが分かった。そこで、窒素固定能の持続を狙って培地のグルコース量を 2 倍にしたところ、Glu 生産量は 1.13 g/L にまで増加した。生産された Glu の炭素骨格は、CgCS 株ではグルコース、CitS 株ではクエン酸由来であったが、CgCS+CitS 株では全てクエン酸由来であった。このことから高い Glu 生産能を有する CgCS+CitS 株は、グルコースを窒素固定の駆動源、クエン酸を Glu の骨格として使い分ける興味深い代謝をしていると考えられる。

In the last annual meeting, we reported the successful Glu production using aerial N₂ by the recombinant N₂-fixing bacterium *Klebsiella oxytoca* NG13 strain (CgCS+CitS strain) that overproduced citrate synthase of *Corynebacterium glutamicum* (CgCS) and citrate transporter of NG13 (CitS) in a glucose and citrate-containing medium. In this presentation, we succeeded in improving Glu productivity. By an increase in the aerial N₂ supply by changing the culture vessel to φ90 plate with a wider diameter, Glu production increased to 0.6 g/L in the CgCS+CitS strain. In this culture, glutamate was produced only in the glucose-consuming phase with a higher N₂-fixing activity, and after glucose depletion, it halted N₂-fixation and started consuming Glu. When glucose was doubled to prolong N₂-fixing phase, Glu production was increased up to 1.13 g/L. The carbon atoms in produced Glu were derived only from citrate in the CgCS+CitS strain although it overproduced CgCS. This suggests that the CgCS+CitS strain has interesting carbon metabolism, using glucose as the energy source of N₂ fixation and citrate as the backbone of Glu.

nitrogen fixation, L-glutamate fermentation, carbon metabolism

発表責任者：吉留大輔 (babubabu-babubu@g.ecc.u-tokyo.ac.jp)