

講演番号：4A08a17

講演日時、会場：3月30日 11:54～ A校舎08会場

Pantoea ananatis における新規 L-グルタミン酸排出輸送体の同定

Identification of novel L-Glu exporter in *Pantoea ananatis*

○原 吉彦¹、泉井 裕¹、伊藤 久生¹、中松 亘² (¹味の素、²東京電機大学)

○Yoshihiko Hara¹, Hiroshi Izui¹, Hisao Ito¹, Tsuyoshi Nakamatsu² (¹Ajinomoto, ²Tokyo Denki Univ.)

我々はグルタミン酸の溶解度が低い酸性条件下でグルタミン酸結晶を析出させながら発酵を行うことにより、発酵工程の中和に必要となるアンモニア、更に単離精製工程で使用する酸類を削減できる「グルタミン酸晶析発酵法」の実現を目指している。これまでに、自然界より単離した耐酸性菌 *Pantoea ananatis* AJ13355 株から生合成経路の改変等により pH4.5 の酸性条件下において溶解度を上回るグルタミン酸を蓄積する菌株を育種し、培地中にグルタミン酸結晶が析出することを確認している。この取り組みの中で、酸性条件下では菌体生育・糖消費活性がグルタミン酸濃度依存的に低下していることを明らかにしていた。従ってグルタミン酸の菌体外への排出活性を向上させ、菌体内のグルタミン酸濃度を低く維持することによって、このグルタミン酸による阻害は回避でき、発酵成績を向上させられると考えられた。

グルタミン酸の排出担体については *Corynebacterium glutamicum* においてメカノセンシティブチャネル (YggB) が輸送体として機能していることが報告されているが、その他の微生物において、いずれの排出担体が機能しているかは特定されていなかった。そこで我々は *P. ananatis* AJ13355 株の α -KGDH 欠損株が、酸性条件下においてグルタミン酸に対して感受性を示すことを利用し、グルタミン酸耐性を付与する因子のスクリーニングを行った。その結果、多くのクローンにおいて *crp* (cAMP receptor protein) 遺伝子の周辺を含む断片が確認された。これらクローンに含まれる遺伝子の中で *yhfK* 遺伝子のみを過剰発現させることによって、スクリーニングに用いた宿主株はグルタミン酸に耐性を示すようになることが確認でき、本因子がグルタミン酸耐性を付与する遺伝子であることが明らかとなった。YhfK は Putative efflux transporter (PET) family のタンパク質で、5~6 回膜貫通領域に続く約 170 アミノ酸残基の親水領域というユニットが重複した特徴的な構造を有する。このファミリーには p-hydroxybenzoate の排出担体も含まれることから、本因子がグルタミン酸を排出する輸送担体であると予想された。実際にグルタミン酸生産菌において *yhfK* 遺伝子を過剰発現させることにより、菌体内のグルタミン酸濃度は顕著に低下し、グルタミン酸生産能・糖消費活性を飛躍的に向上させることに成功した。

glutamic acid, exporter, *Pantoea*