

Title	組換えプラスミドによるトリプトファンの生産に関する研究
Author(s)	恒川, 博
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/35004
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	つね 恒	かわ 川	ひろし 博
学位の種類	工	学	博 士
学位記番号	第	7031	号
学位授与の日付	昭和60年11月29日		
学位授教の要件	学位規則第5条第2項該当		
学位論文題目	組換えプラスミドによるトリプトファンの生産に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教授 合葉 修一		
	教授 岡田 弘輔	教授 田口 久治	教授 大嶋 泰治

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、組換えプラスミドによるトリプトファンの安価な製造法の確立を目的とし、遺伝子操作により造成した組換えプラスミドが持つべき特性を明らかにし、また、このプラスミドを保持する菌株の培養法を論じたもので、5章より成る。

第1章では、トリプトファン生合成経路と代謝調節機構に関する数多くの既往の研究を要約し、組換えプラスミドをトリプトファン醗酵に利用することの有効性に言及している。

第2章では、組換えプラスミドによるトリプトファンの生産において考慮すべき基礎的知見を示している。特に、遺伝子増幅効果によるトリプトファン合成系酵素活性の強化と、細胞全体の代謝活性との調和を図るうえで、組換えプラスミドが持つべき特性を明らかにし、トリプトファン生産に最適な宿主・ベクター系について論じている。

第3章は、トリプトファン醗酵の工業化に向けての検討結果をまとめている。すなわち、組換えプラスミドの導入により増強された菌株のトリプトファン生産能を最大限に発揮させるには、従来のアミノ酸醗酵技術で蓄積した古典的な菌株の育種法をも踏襲したうえで、培養条件の最適化が必要であるとしている。

第4章では、組換えプラスミド保持株の培養に際して重要な、プラスミドの安定性の一般的な評価方法を提案している。

最後に、第5章は本研究を総括し、併せてトリプトファン醗酵について今後の展望を行なっている。

論文の審査結果の要旨

本論文は宿主として大腸菌、ベクターにトリプトファン・オペロンをクローン化した組換えプラスミドの系を用い、(i)強固なフィードバック制御（酵素合成の抑制及び酵素活性の阻害）を遺伝的に解除し、(ii)生産物（トリプトファン）の分解反応を停止させ、かつ、(iii)生産物の前駆物質（アントラニル酸）の供給方法を改善することにより、従来、困難視されてきた微生物によるトリプトファンの工業的生産プロセスを新たに開発したもので、その主な成果は以下のごとくである。

- (1) 培地（37℃）中のトリプトファン蓄積濃度の最適化実験からは(i)宿主菌の性質としてトリプトファン・オペロンの欠失変異以外にリプレッサーの変異及びトリプトファンナーゼの欠損変異が必須である(ii)遺伝子増幅効果には限度がありコピー数中程度の pSC101-trp に由来する変異プラスミドが最適である(iii)生産物阻害解除の程度にも最適値があることを、それぞれ見出している。事実、小型培養槽（2ℓ，27h）で6.2g/ℓ生産速度として0.23g/ℓ/hのトリプトファンを蓄積させることに成功している。
- (2) 組換えプラスミドの導入により増強された菌の潜在能力と、従来の古典的な菌株育種法とを組合せた結果、(i)ジャー型培養槽（30ℓ）の培養温度を0～24hで33℃、以後、温度を徐々に下げ42h以降は30℃；アントラニル酸とグルコースの連続供給；培養84hで約35g/ℓのトリプトファンを蓄積する(ii)トリプトファンの生産速度はほぼ0.420g/ℓ/hであり、この速度は既往の報告例中最も大きい値を示す例の2倍以上であることをそれぞれ確認している。
- (3) 組換えプラスミドを保持する形質転換株と宿主菌の比増殖速度の比、 α 及び宿主菌の分裂に際しプラスミドが脱落する頻度、 p をパラメータとする安定性の一般的評価法は、不安定な組換えプラスミドの安定化法の検討にも有用である。なお、本研究で用いた pSC101-trp 変異プラスミドは、この一般的評価法にまつまでもなく、極めて安定に宿主菌（大腸菌）に保持されている。

以上の成果は、組換えプラスミドの醸酵工業への利用に関し多くの知見並びに示唆を与えており生物化学工学上貢献するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。