



Title	Streptoverticillium rimofaciensによるミルディオマイシンの醸酵生産に関する研究
Author(s)	澤田, 秀和
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35525">https://hdl.handle.net/11094/35525</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	さわ だ ひでかず 澤 田 秀 和
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	第 7 7 6 3 号
学位授与の日付	昭 和 62 年 3 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	<u>Streptovercillium rimofaciens</u> によるミルディオマイシンの醗酵生産に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 田口 久治 教 授 岡田 弘輔 教 授 山田 靖宙 教 授 合葉 修一 教 授 大嶋 泰治

## 論文内容の要旨

本論文は、*Streptovercillium rimofaciens* B-98891 が生産する新抗生物質ミルディオマイシン (MIL) を農薬として実用に供する目的で、醗酵生産に関する工業化のための基礎研究を行なった結果をまとめたものであり、緒論、本論 5 章及び総括からなっている。

緒論では、MIL が植物病害菌の一種であるウドンコ病菌に対して抗菌活性を示し、核酸塩基部位に 5-ヒドロキシメチルシトシン (HMC) を有する抗生物質であることと、本研究の目的、意義を述べている。

第 1 章では、多数の検体を迅速に測定できる MIL の比色定量法および高速液体クロマト法を設定した後、塩化コリンなどの第 4 級 N-メチルアンモニウム化合物が、MIL 生産に有効であることを見出し、フラスコ振盪培養における基本的な培地、培養条件を明らかにしている。

第 2 章では、微量副産物である MIL 関連物質 (MIL-D) の構造を決定するとともに、MIL に対する MIL-D の蓄積比が、フラスコ振盪培養の酸素供給条件が悪くなると増加することを見出している。

第 3 章では、HMC の添加により MIL の生成が促進されたが、シトシン、5-メチルシトシン、5-プロモシトシン、5-ヨードシトシンあるいは 5-フロロシトシンを添加した場合、MIL の生成が抑制され、HMC 部位がそれぞれのピリミジンに置換した類縁体が生成されることを明らかにしている。

第 4 章では、5'-CMP のホルムアルデヒド (または L-セリン) を基質とし、テトラヒドロ葉酸を補酵素する酵素反応により、HMC が生成されること、さらに 5'-CMP のヒドロキシメチル化酵素とヒドロキシメチル化された 5'-CMP の分解酵素の 2 つの酵素が、HMC の生合成に関与してい

ることを証明し、HMCの新しい生合成経路を明らかにしている。

第5章においては、HMC生合成の活性が強くなった変異株をアミノプテリン（HMC生合成系の阻害剤）を用いて順次選択し、さらにMIL分子中に存在するアルギニン類縁残基の生合成能を強化するためにカナバニン耐性株を誘導し、MIL生産能の向上した変異株を育種している。次に、この高力価変異株を5ℓ容ジャーフェメンターを用いて培養し、リン酸、アンモニア水およびグルコース液をフィードする培養法を設定した後、このフィード培養法を200ℓ容および6 m<sup>3</sup>容醗酵槽に適用し、MIL生産のための工業的培養法を確立している。

総括では、本研究で得られた主要な結果を述べている。

### 論文の審査結果の要旨

本論文は、*Streptovercillium rimofaciens* B-98891が生産するウドンコ病菌に強い抗菌活性を示し、核酸塩基部位に5-ヒドロキシメチルシトシン（HMC）を有する新抗生物質ミルディオマイシン（MIL）の生合成経路を解明した結果に基づく高力価変異株の育成ならびに基質の流加と酸素供給を基準とするMIL生産のスケールアップに関する研究をまとめたものであって、主な成果の要約はつぎのごとくである。

- (1) MILの生成にはアルギニンのγ位の酸化が必要で、この酵素反応が酸素関与であることから、溶存酸素欠乏の条件ではMILの生成が減少し、抗ウドンコ病活性の弱いMILのデオキシ体MIL-Dが生成されることを見出している。
- (2) HMCを培地に添加することによりMILの生成が促進されることから、HMCの生合成系を無細胞抽出液を用いて検討した結果、シチジン-5'-1リン酸がヒドロキシメチル化反応を受けて5-ヒドロキシメチルシチジン-5'-1リン酸（HMCMP）を生成し、次にHMCMPのN-リボシル結合が分解されてHMCが生成されることを明らかにしている。
- (3) *S.rimofaciens* B-98891の変異株をD-サイクロセリンとHMC生合成阻害剤であるアミノプテリンを用いて選別した後、MIL分子中のアルギニン類縁残基の生合成能が増強された高力価変異株をL-カナバニン耐性株として育成している。
- (4) 高力価変異株の小型醗酵槽において得られた培養菌体の形態と基質の流加、酸素供給、かくはん条件の関係に基づき、生産用醗酵槽の操作条件の決定に成功している。

以上のように、本論文は抗生物質の高力価生産株の育成に新しい手法を提案するとともに醗酵プロセスのスケールアップに対して有用な地見を与えたもので、醗酵工学および生物化学工学の発展に寄与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。