

Title	レースレオニンおよびレーイソロイシンの生産菌の育種に関する研究
Author(s)	古川, 令
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/36948">http://hdl.handle.net/11094/36948</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名・(本籍)	ふる 古	かわ 川	さとし 令
学位の種類	工	学	博 士
学位記番号	第	8968	号
学位授与の日付	平成2年2月2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	L-スレオニンおよびL-イソロイシンの生産菌の育種に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教授	岡田 弘輔	
	(副査) 教授	大嶋 泰治	教授 山田 靖宙 教授 今中 忠行

### 論文内容の要旨

本論文はL-イソロイシンを約30 g/l、およびL-スレオニンを約80 g/l培養液中に蓄積する実用生産株を育種したものである。

L-イソロイシンとL-リジンが共通の生合成経路で合成されること、およびL-リジン生産菌がL-イソロイシン生産菌より高い対糖収率を示すことから、L-イソロイシン生産株 *Corynebacterium glutamicum* R-18株とL-リジン生産株S-37株の細胞融合を行っている。R-18株は9.5 g/lのL-イソロイシンを、S-37株は26.8 g/lのL-リジンを生産するが、融合株F-28株は12.1 g/lのL-イソロイシンと4.8 g/lのL-リジンを生産し、F-91株は4.8 g/lのL-イソロイシンと13.0 g/lのL-リジンを生産する(以上いずれも試験管培養)。これらの生産性は安定に遺伝する。F-28株はジャー培養においてはL-イソロイシン生産速度は2.4倍に改善され、41時間培養で26.1 g/lのイソロイシンを蓄積できる。

さらに、F-28株およびF-91株にスレオニンオペロンを含むプラスミドを導入すると、それぞれ29.2 g/lおよび29.6 g/lのL-イソロイシンを蓄積する。

L-スレオニン生産株、*Escherichia coli* W株のKY-8366株はL-スレオニンによって発育阻害とL-スレオニン生産阻害をうけるのみでなく、L-スレオニン分解活性を有する。*E. coli*のL-スレオニン分解がグリシンを経由する経路であることを推定し、L-スレオニンを窒素源として利用できない変異株H-3502を取得している。この変異株ではL-スレオニン分解活性は18%まで低下している。

H-3502株にリファンピシン耐性、L-リジン・メチオニン耐性、L-ホモセリン耐性、L-アスパラギン酸耐性を付与してL-スレオニン高生産株H-4578株を取得している。H-4578株はH-3502株

にくらべて、スレオニンオペロン酵素活性は9倍に増加している。またL-スレオニン生産は試験管培養でKY-8366株の3.8倍に増加し、ジャー培養で75時間で76 g/lのL-スレオニンを生産している。これは工業生産に耐える生産性である。

### 論文の審査結果の要旨

L-イソロイシン、L-スレオニンはともに必須アミノ酸であり、とくにL-スレオニンは飼料添加物として安価な大量生産が望まれている。本論文はL-イソロイシン生産株とL-スレオニン生産株を育種した結果をまとめたものであり、次のような重要な結論を含んでいる。

- 1) L-イソロイシン生産性の *Corynebacterium glutamicum* R-18株と対糖収率のよいL-リジン生産株S-37株の細胞融合を行って、融合株中对糖収率のよいL-イソロイシン生産株が存在することを証明している。
- 2) さらに上で得られた融合株に大腸菌のスレオニンオペロンを含むプラスミドを導入するとL-イソロイシン生産性が向上することを示し、ジャー培養で約30 g/lのL-イソロイシン生産を可能にしている。
- 3) L-スレオニン生産について、*Escherichia coli* W株からの誘導株KY-8366が、高濃度L-スレオニン存在下で、L-スレオニン生育阻害をうけるのみでなく、L-スレオニン分解活性を有することを明らかにしている。まずL-スレオニンを窒素源として利用できない変異株を分離してL-スレオニン分解活性を18%に低下させ、次いでリファンピシン耐性、L-リジン・メチオニン耐性、L-ホモセリン耐性とL-アスパラギン酸耐性を付与して最終生産株を得ている。
- 4) かくして得られた生産株はジャー培養において75時間で76 g/lのL-スレオニン生産を示す。

以上のように本論文はアミノ酸醗酵工業ならびに醗酵生産学に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。