



Title	大腸菌によるビオチン生産に関する研究
Author(s)	伊福, 欧二
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39525">https://hdl.handle.net/11094/39525</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	伊福歐二
----	------

博士の専攻分野の名称	博士(工学)
------------	--------

学位記番号	第 12022 号
-------	-----------

学位授与年月日	平成 7 年 5 月 31 日
---------	-----------------

学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
---------	--------------

学位論文名	大腸菌によるビオチン生産に関する研究
-------	--------------------

論文審査委員	(主査) 教授 ト部 格
--------	--------------

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、遺伝子工学的手法を応用した大腸菌ビオチン高生産菌株の育種と遺伝子解析に関する研究、さらにその応用を目的としたビオチン生合成機構の解明を目指した基礎研究をまとめたものであり、以下の 5 章から構成される。

緒論では、本研究の背景ならびに関連する従来の研究について概説し、論文の目的および概要を述べている。

第 1 章では、大腸菌野生株を突然変異処理法と、遺伝子工学的手法を応用し、ビオチン高生産菌株を育種している。

第 2 章では、第 1 章で得られたビオチン高生産菌株を用い、ビメリル CoA 以前の生合成経路を、種々の<sup>13</sup>C 標識化合物の取り込み実験から得られたデチオビオチン、及びビオチン、さらに培地中に放出された CO<sub>2</sub> の<sup>13</sup>C - NMR を測定、詳細を検討することにより、ビオチンの各炭素原子の由来を明らかにし、大腸菌生合成経路のうち、不明であったビメリル CoA 以前の生合成経路を考察している。

第 3 章では、ビオチン生合成の最終段階であるデチオビオチンからビオチンへの変換反応を、組換え菌を用いることにより、初めて無細胞抽出系で確認することに成功し、この変換系を用いて、本変換反応促進因子を明らかにしている。さらに本変換反応には、従来より言われていた BioB 以外にも、他の蛋白質画分が必要であるという新たな事実を見いただしている。

第 4 章では、第 3 章の結果を受けて、ビオチン変換反応に必要な BioB 以外の蛋白質が大腸菌フラボドキシンであることを突き止め、フラボドキシンが電子伝達体として BioB と共にビオチン変換反応に関与していることを明らかにしている。

第 5 章では、ビオチンの代謝拮抗物質を選択圧として利用して、ビオチン生産能が増大した変異株を取得している。それらの変異株の遺伝子解析を行い、結果として、ビオチンオペロンの高発現機構を明らかにしている。

総括では、以上の結果を要約し、今後の解決すべき課題と展望をまとめている。

## 論文審査の結果の要旨

ビオチンは、生体内の各種代謝反応に関与する重要なビタミンである。本研究は、遺伝子工学的手法を用いることにより、微生物によるビオチンの効率的な発酵生産を行うことを目的としたものであり、得られた主要な成果を要約するところの通りである。

- (1) 大腸菌野生株を突然変異処理し、ビオチンによるフィードバック抑制が解除された脱抑制株を取得し、そこにビオチン合成に関与する遺伝子群を導入することにより、ビオチン高生産株を育種している。
- (2) 育種したビオチン高生産組換え大腸菌を用い、グルコース、アラニン、酢酸ナトリウムの取り込み実験を行い、ピメリルCoA 以前のビオチン合成経路の解明を行っている。
- (3) ビオチン合成の最終段階であるデチオビオチンからビオチンへの変換反応を、組換え菌を用いることにより、初めて無細胞抽出系で確認することに成功している。さらに、この変換系を用いて、本反応促進因子を明らかにしている。
- (4) 上記無細胞反応系を用い、本変換反応には、従来より言っていたBioB以外にも、未知の蛋白質が必要であるという新たな事実を見いだしている。
- (5) ビオチン変換反応に必要なBioB以外の蛋白質を精製し、それがフラボドキシンであることを明らかにしている。
- (6) ビオチンの代謝拮抗物質を選択圧として利用し、ビオチン生産能が増大した変異株を取得している。さらに、それらの変異株の遺伝子解析を行い、ビオチンオペロンの高発現機構を明らかにしている。

以上のように、本論文は、ビオチン合成機構を解明することにより、大腸菌によるビオチン発酵生産の基礎を確立するとともに、高生産菌株の育種に成功していおり、応用生物工学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。