

Title	細菌によるイソプロパノールからのビタミンB12およびポルフィリンの生産
Author(s)	小島, 一郎
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/39568">http://hdl.handle.net/11094/39568</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名	小島一郎
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 1 2 2 1 0 号
学位授与年月日	平成 8 年 1 月 1 2 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	細菌によるイソプロパノールからのビタミン B <sub>12</sub> およびポルフィリンの生産
論文審査委員	(主査) 教授 今中 忠行 教授 山田 靖宙      教授 卜部 格      教授 小林 昭雄

### 論文内容の要旨

本論文は、イソプロパノール (IPA) 資化性細菌を用いてビタミン B<sub>12</sub>、およびその類縁化合物で病気の診断、治療に期待されるが現状では非常に高価なコプロポルフィリンⅢおよびウロポルフィリンⅢを効率よく生産する手段を提供するとともに、IPA からのポルフィリンの生合成経路を明らかにしたものである。

序論では、本研究の目的と意義、背景および本研究の概略を示している。

第 1 章では、全国から集めた 570 点の土壌から IPA 資化性細菌を約 500 株分離し、増殖活性の大きい *Arthrobacter* 属細菌の最大比増殖速度が  $0.19\text{h}^{-1}$ 、窒素含有量が 11% であることを明らかにしている。さらに Co 塩含有培地でよく増殖した細菌のうち、ビタミン B<sub>12</sub> 生産量の多いものを分類学的同定の結果、*Arthrobacter* 属の新菌種であることが判明し、*A. hyalinus* と命名している。本菌の IPA 流加培養により 50 時間で IPA を  $80\text{ml}/\ell$  消費させ、ビタミン B<sub>12</sub> を  $2.0\text{mg}/\ell$  生産させている。

第 2 章では、本菌の培養液に蓄積する赤色色素を単離し NMR などの機器分析により、これらはウロポルフィリンⅢ、ヘプター、ヘキサー、ペンター、各カルボキシポルフィリンⅢおよびコプロポルフィリンⅢであることを明らかにしている。さらに脱炭酸の順序は D 環から始まることを推定している。

第 3 章では、本菌の培養条件の最適化と突然変異処理により 1  $\ell$  の培養液あたりコプロポルフィリンⅢを 440mg、ウロポルフィリンⅢを 170mg、ウロポルフィリンⅠを 25mg 生産する条件を示している (IPA 消費量  $61\text{ml}/\ell$ 、培養日数 17 日)。

第 4 章では、ビタミン B<sub>12</sub> とポルフィリンの生産に良好な原料となる IPA がポルフィリンへの代謝前駆体となることを、<sup>13</sup>C で標識した 5-アミノレブリン酸 (ALA)、L-グルタミン酸、酢酸、または IPA を添加した培地で培養し、生成したウロポルフィリンⅢのオクタメチルエステルの <sup>13</sup>C-NMR スペクトルから確認している。さらに任意の炭素に標識されたポルフィリンの生産を可能としている。また本菌の ALA 合成は Shemin 経路が否定され C-5 経路であることを明らかにしている。

第 5 章では、鉛中毒や先天性血液病患者の血液や尿にはプロトポルフィリン IX よりもその亜鉛錯体が多く検出され

ると同様、本菌の培養液にも各種ポルフィリンの亜鉛錯体が見いだされることをLC/MSから明らかにしている。本菌の培養液からウロポルフィリンⅢ亜鉛錯体を調製しこの理化学的性質を明らかにしている。

総括と展望では以上の結果を要約し将来への課題を展望している。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、土壌から分離したイソプロパノール (IPA) 資化性菌のなかにビタミンB<sub>12</sub>生産菌を見出し、この生産条件を最適化するとともに、同じ菌が生産する赤色物質がポルフィリンであることを構造確認し、この生産条件を改良することにより著量の生産に成功している。さらに<sup>13</sup>Cで標識した前駆体またはIPAのポルフィリンへの取り込みを分析することにより、IPAがポルフィリンとビタミンB<sub>12</sub>への良好な原料となることを明らかにしている。

これらの結果を要約すると以下ようになる。

- (1) 土壌から分離したIPA資化性菌のうち、菌体生産に適している菌株 (*Arthrobacter* 属) は増殖が速く蛋白含量がかなり多いので従来のIPA資化性菌とは異なる優れた特徴がある。別の菌株はビタミンB<sub>12</sub>を生産し分類学的同定により *Arthrobacter* 属新種 (*A. hyalinus* と命名) であることを明らかにしている。
- (2) *A. hyalinus* の生産する赤色色素を精製分離し種々の機器分析によりこれらがウロポルフィリンⅢ、ヘプター、ヘキサマー、ペンター、各カルボキシルポルフィリンⅢおよびコプロポルフィリンⅢであることを明らかにするとともに、ヘプタカルボキシルポルフィリンⅢはD環が脱炭酸されていることを明らかにし脱炭酸される順序について推定している。
- (3) *A. hyalinus* の突然変異、培養条件の改良により、ポルフィリンの生産量を合計700mg/ℓ程度にも向上することに成功している。
- (4) <sup>13</sup>Cで標識した5-アミノレブリン酸はじめL-グルタミン酸、酢酸またはIPAのウロポルフィリンⅢへの取り込み、特に生合成による炭素標識の追跡結果を明確にしている。
- (5) 亜鉛ポルフィリンが血液中にも見出される報告を受けて、本菌の培養液にも亜鉛ポルフィリンが生成していることを明らかにし、このうちウロポルフィリンⅢ亜鉛錯体を調製しこの理化学的性質を明らかにしている。

以上のように、本論文は、血液、尿分析の標準試薬、さらに病気の診断と治療に最近注目されているが未だ高価であるポルフィリンを、IPAから安価に供給する手段を提供するとともに、IPAがなぜ良好な原料となるか考察を加えている。天然化合物を微生物により効率よく大量製造する技術の開発は醗酵工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。