



Title	代謝工学的アプローチによるリジン発酵プロセスの運転制御
Author(s)	滝口, 昇
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40635">https://hdl.handle.net/11094/40635</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	滝 口 昇
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 8 7 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学 位 論 文 名	代謝工学的アプローチによるリジン発酵プロセスの運転制御
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 塩谷 捨明  (副査) 教 授 ト部 格    教 授 小林 昭雄    教 授 関 達治 教 授 二井 将光    教 授 山田 靖宙    教 授 金谷 茂則 教 授 菅 健一    教 授 原島 俊    教 授 室岡 義勝 教 授 吉田 敏臣

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、代謝工学的なアプローチを用いたリジン発酵プロセスの代謝反応フラックスのオンライン解析と、その運転制御への応用についての一連の研究成果をまとめたもので、緒論、第1章、第2章、第3章、および総括の5章から構成されている。

緒論では、本研究の背景を調べ、本研究の意義とその概要について述べている。

第1章では *Corynebacterium glutamicum* のリジン生合成に関しての代謝反応モデルをオンライン利用が可能な形で構築している。次に、この代謝反応モデルを利用して、増殖、基質消費、リジン生産との関係の解析をおこない、従来経験的に決定されてきた各速度間の関係や維持定数を生化学情報をベースに把握する方法を提案している。またこの関係を基に、所定の時間内に最大リジン生産を得るための最適化問題を考え、増殖と生産のバランスを最適に組み合わせる方法を開発している。

第2章では代謝反応モデルを用いて菌体内の代謝フラックスの解析をおこない、培養状態の変化との関係を調べることでオンライン状態認識を可能にするシステムの構築をおこなっている。オンラインデータに含まれるノイズを除去するため、菌体とグルコースのデータには拡張カルマンフィルタを、酸素と二酸化炭素については一次フィルタを適用している。この測定値を用いて代謝フラックス解析をおこなった結果、培養状態を菌体増殖期、リジン高生産期、リジン生産減衰期の3つに分け、この3つの培養状態をオンラインで認識してグルコースやロイシンの間欠添加や培養終了などの指標とすることが可能となることを示している。また、菌体内の代謝フラックス分布を解析した結果、増殖期とリジン生産期とで菌体内のフラックス分布が大きく変化していることが確認され、さらにリジン生産経路とペントースリン酸経路との間に密接な関係があることが確認されている。

第3章ではリジン発酵プロセスのより効率的な運転のために、ロイシンが長時間涸渇することによるリジン生産活性の低下を回避し、リジン高生産期を延長するための方策を半回分培養で実現している。ロイシンの間欠的な添加とその間隔が培養時間と対糖リジン収率にどのように影響を及ぼすかを調べた結果、培養時間は添加間隔が短い方が延長できるが、リジン収率については添加間隔が長い方が大きく上回っていた。これらの結果に基づき、間欠流加培養系において収率を極端に低下させずに長時間の運転をおこなうため、オンライン情報を基に、生産活性にみあったように添加間隔を短くできる自動添加システムの実現がある限られた範囲内で可能となり、培養時間の延長が可能となることが示されている。

総括では、以上の結果を要約し、本研究で得られた結論を総括している。

## 論文審査の結果の要旨

近年、代謝工学の分野では利用可能な生化学の情報から構築された代謝反応モデルを利用することで、生化学ネットワークを解析する試みが数多くなされている。その結果、オフラインでの細胞内の代謝フラックス分布を明らかにすることが可能となり、遺伝子組み換え技術を用いて代謝経路を改変する上での指標とすることが可能となってきた。しかしながら、それらはオフラインでの解析であり、培養プロセスのオンライン制御への適用はなされていない。本研究ではこの代謝工学的なアプローチを用いた *Corynebacterium glutamicum* によるリジン発酵プロセスの代謝反応フラックスのオンライン解析と、その運転制御への応用を目的としておこなわれたものである。その主な成果は以下のとおりである。

- (1) リジン生産収率や生産性向上を目的とした代謝反応フラックス解析のために必要十分な代謝反応モデルが構築され、その正当性について検討されている。また、この代謝反応モデルをもとに比速度間の関係式を導出し、リジン発酵回分培養プロセスの最適化に利用することで、リジン生産量が改善されることが示されている。
- (2) 代謝反応モデルを用いてオンラインで菌体内の代謝フラックスの解析をおこない、培養状態の変化との関係を調べ、オンライン状態認識を可能にするシステムの構築がされている。まず、菌体濃度やグルコース濃度といった非常に多くのノイズを含むオンラインデータのノイズ除去に拡張カルマンフィルタを適用することで、これらのデータのオンライン代謝フラックス解析への利用を可能としている。さらに、代謝反応モデルを利用することで、菌体内の代謝反応やリジン生産反応のフラックスをオンラインで推定することが可能となり、リジン生産開始時期の確認、および培養終了時期の判断が可能であることが示されている。また、この状態認識結果をリジン発酵の運転支援に用いることで、リジン生産収率が改善されている。
- (3) リジン生産期におけるロイシンの添加が、リジン高生産活性の維持に有効であることが確認されている。さらに、ロイシンの添加間隔の対糖リジン収率および培養時間に対する影響を調べることで、対糖リジン収率を極端に低下させることなく長時間培養するために適したロイシンの添加方策が得られ、その結果、リジン生産量および生産性が改善されている。

以上のように本論文は、細胞内の代謝フラックス分布をオンラインで解析し、その結果を培養プロセスの運転制御に適用する意図で、オンラインで利用可能な代謝反応モデルの構築と、それを用いたオンライン状態認識システムの構築、およびこのシステムを培養プロセスへ適用したものであり、その成果は代謝工学および生物プロセスシステム工学の発展に寄与するところが大い。よって本論文は博士論文として価値あるものとして認める。