

Title	ATP再生系と生合成酵素系の共役反応による有用物質の生産
Author(s)	藤尾, 達郎
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41101">https://hdl.handle.net/11094/41101</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名	藤 尾 達 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 0 6 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 5 月 29 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	ATP 再生系と生合成酵素系の共役反応による有用物質の生産
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉 田 敏 臣 (副査) 教 授 菅 健 一    教 授 室 岡 義 勝    教 授 山 田 宙 靖 教 授 関 達 治    教 授 塩 谷 捨 明    教 授 卜 部 格 教 授 小 林 昭 雄    教 授 原 島 俊    教 授 金 谷 茂 則 教 授 二 井 将 光

## 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、医薬品としての用途がある ATP および CDP コリン、調味料として大きな需要がある 5'-グアニル酸 (GMP) の、酵素法による工業的な製造法の開発にかかわるものである。すなわち、CDP や GMP を生合成する酵素 (系) は高価な ATP が必要であるが、ATP 再生酵素系と共役させることによって、菌体由来のごく少量の ATP を反復使用するプロセスを考案し、共役反応系として、単一の菌が保有している生合成活性と ATP 再生活性を利用する反応法 (自己共役反応法) と、別々の菌が保有している両活性を組み合わせる反応法 (異菌体間共役反応法) の 2 種のプロセスを開発した結果について述べており、緒論、それぞれ 2 章からなる第 I 部と第 II 部および総括をもって構成されている。

緒論では、両共役反応法に関する概要説明、検討対象とする各物質の用途、生産量、製造法などについてまとめている。

第 I 部では、はじめに本研究に先立つ ATP 再生系研究の概要につきまとめるとともに、以下の各章において自己共役反応法による有用物質生産プロセスについて述べている。

第 1 章では、*Corynebacterium ammoniagenes* を用いるアデニンからの ATP 生産プロセスが、グルコースからのリボース生合成反応とグルコース代謝による ATP 生合成反応とを共役させる自己共役反応法によって可能となったことを示している。さらに、GMP 合成酵素の基質となる 5'-キサンチル酸 (XMP) を発酵法により生産し、その発酵液を XMP の供給源とする実用的なプロセスを構築するための条件を検討し、反応条件の最適化により工業的生産プロセスが成立するに至ったことを示している。

第 II 部では、はじめに異菌体間共役反応系の概要、期待されるメリットを記し、以下の各章において本共役反応法を用いる GMP の新規な生産プロセスの開発、さらに両共役反応系を利用した複合共役反応法による CDP コリン生産プロセスについて述べている。

第 1 章では、セルフクローニングにより GMP 合成酵素活性を大幅に強化した *Escherichia coli* と、強力な ATP 合成活性を有する *C. ammoniagenes* とを共役させる異菌体間共役反応法により成立した、効率的な GMP 生産プロセス

につき述べている。

第2章では、*E. coli* に導入した酵母の CDP コリン合成酵素系と、*C. ammoniagenes* のピリミジンヌクレオチド合成系および ATP 再生系活性を組み合わせ、安価な原料であるオロト酸を用いる CDP コリン生産プロセスを構築できたことを示している。

総括では、以上の結果を要約し、本研究で得られた主たる結論を総括している。

## 論文審査の結果の要旨

微生物の機能を利用する物質生産の技術すなわち微生物生産技術は、日本が得意とする先導的技術として世界的に高く評価されている。とくに微生物の細胞内反応のネットワークを人為的に制御する代謝調節発酵という分野を開いたことは重要である。しかし、調味料、医薬品として需要の高い核酸関連物質は重要な生物生産物であるが、その合成が生命維持に必須な核酸合成経路に属するもので代謝調節発酵の対象としては不適であり、それに変わる技術の開発が要望されていた。本論文は、核酸関連物質の工業的生産技術として、酵素的変換をプロセス開発の基幹的要素としつつ、変換に必要な酵素群ならびに変換反応のエネルギー源である ATP の合成代謝系の供給に微生物細胞の総合的能力を利用するという、新しい発想による生物生産技術開発に関する研究をまとめたもので、以下に要約されるようにいくつかの新しい提案を行うとともに工業的技術として種々応用可能な重要な知見ならびに結論を得ている。

- (1) *Corynebacterium ammoniagenes* の一菌株が極めて高い糖代謝機能を有することに着目し、グルコースからリボースを変換誘導し安価な合成アデニンから ATP を合成する 4 段階の酵素反応からなる合成反応系とエネルギーを生み出す糖代謝系を共役させる新しい ATP 生産法を提案し、工業化に成功している。
- (2) このように ATP 再生能力の高い *C. ammoniagenes* を用いて GMP 合成酵素活性を強化した変異株を作成し、GMP 合成活性と ATP 合成活性を共役することによってエネルギー源として ATP を要求する変換反応である GMP 合成反応を安価なグルコースを原料として行わせ得ることを明らかにしている。
- (3) 遺伝子組み換え技術を適用して GMP 合成酵素活性を格段に強化した *Escherichia coli* を育種し、これを転換菌(物質変換に供する細胞)とし、GMP の前駆体である XMP の生産菌である *C. ammoniagenes* の一菌株を ATP 再生系として共役反応を行わせる「異菌体間共役反応法」を開発し、その工業的応用に成功している。
- (4) *C. ammoniagenes* の一菌株を用いるオロト酸から UTP を「自己共役反応法」により合成するピリミジンヌクレオチド合成系と、遺伝子操作により CTP 合成酵素を強化した *E. coli* の一菌株による CTP 合成系を共役させる「異菌体間共役反応系」を構築し、両共役反応系を組み合わせ、発酵法では生産困難な CTP を生産する方法を考案している。このように、遺伝子操作等の方法を援用しながら共役反応を高度に組み合わせた代謝系を人工的に作成した細胞を用いて複雑な生合成を行わせる、新しい生物生産法を提案し、工業的応用を実現している。この方法は、微生物細胞を用いる酵素法を基幹とするもので、代謝制御発酵に相当する高度な生物生産技術である。

以上のように、本論文は微生物生産プロセスの開発法に関する新しい提案を行い、バイオプロセスの工業的展開に関する基盤的技術について価値ある知見を得ており、発酵工学、特に微生物菌体酵素法分野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。