

氏名 大場健吉
 学位(専攻分野) 博士 (農学)
 学位記番号 論農博第2270号
 学位授与の日付 平成11年11月24日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 学位論文題目 生理活性脂質の生物生産に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 木村 光 教授 大東 肇 教授 桑原正章

論文内容の要旨

アラキドン酸(AA)およびプロスタグランジン(PG)は、AAカスケードの中核をなす生理学的に重要な脂質であり、AAは乳幼児栄養の分野で注目されており、またPGは医薬品として幅広く使われている。これらの製造法として、AAは動物組織からの抽出法、PGは化学合成法が用いられているが、いずれも生産性の点で十分なものではない。本論文は、生物の持つ反応特異性を利用したAAおよびPGの効率的な生産法の確立に関するものである。主な内容は以下のとおりである。

第1章微生物によるAAの生産

従来、AAは動物組織からの抽出法により得られてきたが、その収率は低く大量生産は難しい。微生物による発酵生産も提案されているが、高収率でAAは得られていない。そこで、AAを高収率で生産できる微生物を求めて、糸状菌のスクリーニングを行った。その結果、*Mortierella alpina*の4株は、これまで微生物や藻類で報告されている値の3~20倍量のAAを生産することが明らかになった。次いで、4株中最もAA生産性の高かったIFO8568株について固体培養でのAA生産条件を設定した。さらに、500Lのフェーマンターによる液体培養で、11g/Lという高収率でAAを生産できることを明らかにした。

第2章微生物および海藻によるAAからPGへの変換

現在、医薬品として用いられているPG類(PGE1, PGE2, PGF2 α)は、いずれも化学合成法により生産されているが、効率が極めて悪い。そこで、本論文ではまず、これら3種のPGを対象にスクリーニングを行い、3種のPGすべてを生産する能力を有する細菌3株、糸状菌8株を見出した。また、それらのうち5株(細菌1株、糸状菌4株)の培養液にAAを添加することにより、PGE2あるいはPGF2 α への変換が可能であることを明らかにした。次に、資源が豊富で、しかも再生産可能な海藻を利用したPGの工業的生産の可能性を検討した。海藻オゴノリの生成藻体あるいは凍乾燥体を細切後、蒸留水中にて攪拌した場合にPGの生成が認められ、その90%がPGE2であった。

オゴノリは本来PGを含有しておらず、貯蔵されている高度不飽和脂肪酸から酵素反応によりPGへと変換されるものと考えられた。また細切した生鮮藻体にPG前駆体であるジホモγリノレン酸、AAまたはエイコサペンタン酸を添加して反応させることにより、各々PGE1, PGE2, PGF2 α を主組成とするPGの選択的生産が可能であることを明らかにした。また、純粋培養したオゴノリの藻体を用いて、オゴノリ自身がPG生産生物であることを確認した。

オゴノリによるAAからPGE2への変換は、既知の哺乳動物による生合成系とは異なる経路で生成されることが考えられたため、その生合成経路について検討した。まず、PG生合成の鍵酵素であるシクロオキシゲナーゼの各種阻害剤の添加実験を行ったが、オゴノリのPGE2生成はほとんど影響を受けず、哺乳動物とは異なる新たなPG変換酵素の存在が示唆された。また、PG生成反応前後で総脂質をオゴノリから抽出・分画し、各画分のAA量を分析した結果、糖脂質およびリン脂質からPG前駆体となる遊離AAが供給されることが示唆された。さらに、遊離AA以降の代謝経路を調べるため、オゴノリのPG生合成反応系に¹⁴C-AAを添加することにより、15-ヒドロペルオキシ-PGE2の生成を確認した。本物質は、オゴノリによってPGE2に合成されることが確認されたことから、哺乳動物のPG生合成経路とは異なるPGE2の新たな代謝中間体と判明した。

論文審査の結果の要旨

本論文は、生物のもつ反応特異性を利用した AA および PG の効率的な生産法の研究に関するもので、評価すべき点は以下のとおりである。

1. 微生物による AA の生産：従来、動物組織から低収率で抽出されていた AA を高収率で生産できる微生物を求め、糸状菌のスクリーニングを行った。その結果、これまで微生物、藻類について報告されている値の 3～20 倍量の AA を生産する *Mortierella alpina* を見出した。次いで、固体培養による AA 生産条件の設定を行い、さらに、培養条件の制御が有利な液体培養による AA 生産条件を検討し、500 L のパイロットスケールでの高収率生産を可能にした。これは、生理学的にも栄養学的にも重要性の増大しつつある AA の微生物による工業的生産の可能性を示した最初の研究である。

2. 微生物および海藻による AA から PG への変換：現在、医薬品として用いられている PGE 1, PGE 2, PGF 2 α は、いずれも化学合成法により生産されているが、合成収率が悪い。本論文では、まずこれら 3 種の PG 類を対象に、PG 生産微生物のスクリーニングを行った。その結果、3 種の PG すべてを生産する細菌・糸状菌を見出した。また、PG 生産菌の培養液に AA を添加することにより、PGE 2 あるいは PGF 2 α への変換が可能であることを示した。これまで微生物による PG 生産に関する研究は、例が少なく、しかも E 1, E 2, F 2 α などサブクラスまでの同定はなされていない。したがって本論文は、微生物を用いた 3 種の PG 生産に関する最初の研究である。次に、海藻を用いた PG 類の工業的生産の可能性を検討し、海藻オゴノリの藻体を細切にして、そこへ水を加えて攪拌するという方法により、PGE 2 を主成分とする PG 類の生産が可能であることを示した。また、オゴノリ藻体に PG の前駆体を添加することにより、各 PG の選択的生産が可能であることを示した。これまで、オゴノリに含まれていた多量の PG 類が食中毒の原因であったという報告はあるが、海藻を用いた PG 類の生産に関する研究は知られていない。このように本研究は、海藻を用いた PG 類生産に関する先駆的な研究として評価できる。さらに、オゴノリによる AA から PGE 2 への生合成経路の解明を試み、放射性 AA を用いて、AA が、15-ヒドロペルオキシ-PGE 2 を経て PGE 2 へ生合成されることを明らかにした。この結果は、哺乳動物とは異なる新たな PG 生合成経路が海藻に存在することを示した最初の研究である。

以上のように、本論文は AA を生産する微生物、PG を生産する微生物・海藻に関する種々の生理学的特性と応用研究をまとめたものであり、応用微生物学、微生物生理学、農産製造学などの発展に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、平成 11 年 9 月 9 日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。