

氏名	荒木和美 あら き かず み
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第603号
学位授与の日付	昭和50年7月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	STUDIES ON HISTIDINE FERMENTATION (ヒスチジン発酵に関する研究)

(主査)
論文調査委員 教授 緒方浩一 教授 栃倉辰六郎 教授 山田秀明

論文内容の要旨

本論文は *Corynebacterium glutamicum* による L-histidine (以下すべて L 型) 醗酵をはじめて確立した研究結果について取りまとめたものである。

まず *Cory. glutamicum* の histidine 要求株を採り、各種の条件を検討し、histidine 制限下に培養することによって 10mg/ml 程度の L-histidinol (以下すべて L 型) を蓄積せしめた。この蓄積の機構が histidinol dehydrogenase の欠損と histidine 合成の酵素に対する histidine の代謝制御の解除にあることを明らかにした。ついで蓄積された histidinol の histidine への転換について多数の微生物の中から *Escherichia coli* を選び、醗酵を二段に行なわしめる histidine 生産方法を確立した。

さらに直接糖類から histidine を蓄積させる一段醗酵を目的として *Cory. glutamicum* の各種の histidine analogue 耐性株を採取した。2-Thiazolealanine あるいは 1,2,4-triazole-3-alanine 抵抗性株の 80% 以上が 0.05~3mg/ml の histidine を蓄積した。また従来知られた histidine 生合成の調節機構から考察して purine, pyrimidine および tryptophan analogue である 6-mercaptoguanine, 8-azaguanine, 4-thiouracil, 6-mercaptapurine 抵抗性を逐次付与し、さらに 5-methyltryptophan 抵抗性を付与すると 15mg/ml (対糖収率 10%) の histidine を蓄積し一段醗酵の目的を達成した。

この変異株の histidine 蓄積の機構について無細胞抽出液を用いて検討した。その結果 histidine 合成の第一段階の酵素である phosphoribosyl-ATP pyrophosphorylase の histidine による阻害が解除されており、さらに本酵素活性が野生株の約 2 倍の活性を示すことから feedback repression も解除されていることが明らかとなった。

そのほかに *Brevibacterium ammoniagenes* の histidine 要求株が histidine 生合成の中間体である imidazoleglycerol を 15mg/ml 蓄積することも明らかとなったが本物質を histidine に転換する微生物は見い出されなかった。

論文審査の結果の要旨

1950年代にはじまったグルタミン酸醱酵以来、多くのアミノ酸醱酵がわが国で確立された。しかし重要なアミノ酸である L-histidine (以下すべてL型) については微生物による生産方法は従来知られていなかった。著者は histidine 醱酵の確立を目的として本研究を行なった。まず histidine 生合成の中間体である L-histidinol (以下すべてL型) を大量に蓄積させ、ついで histidinol の histidine への微生物変換に検討を加えその目的を達成するとともに、直接 histidine 生産変異株を誘導することに成功したヒスチジン醱酵を確立した。したがって近代の醱酵生産研究の一つの特長である二段醱酵から直接醱酵に移行した典型的な研究といえることができる。

まず *Corynebacterium glutamicum* の histidine 要求株を採り、histidine 制限下に培養することによって多量の histidinol を蓄積させた。この蓄積機構は histidinol dehydrogenase の欠損と histidine 合成酵素に対する histidine の代謝制御の解除にあることを明らかにした。この histidinol を histidine に転換する菌株として *Escherichia coli* を選び二段醱酵法による histidine 生産方式を確立した。

つづいて直接 histidine の蓄積を目的として *Cory. glutamicum* の histidine analogue 耐性株を採り、さらに従来明らかにされた histidine の生合成経路の代謝制御から考察して purine analogue pyrimidine analogue および tryptophan analogue 耐性を付与することによって 15mg/ml の histidine を蓄積する変異株を得ることに成功した。この蓄積機構について無細胞抽出液を用いて検討し、histidine の生合成に関与する phosphoribosyl-ATP pyrophosphorylase が野性株では histidine によって強い阻害を受けるが histidine 生産株では histidine の阻害が微弱であり、また本酵素活性が野生株の約 2 倍に上昇していることを明らかにした。

以上のように本論文は二段醱酵を経て糖から直接 histidine を生産する histidine 醱酵を確立した研究結果であって微生物工業、微生物生理学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。