

氏 名	菊 池 正 和 きく ち まさ かず
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 499 号
学位授与の日付	昭 和 49 年 3 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 the Production of L-Glutamic Acid by Glycerol Auxotrophs (グリセロール要求株による L- グルタミン酸の生産に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 緒 方 浩 一 教 授 秦 忠 夫 教 授 桒 倉 辰 六 郎

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は従来知られていなかった細菌のグリセロール要求性変異株を誘導して、グリセロールの調節による新しい方式のグルタミン酸醗酵を確立し、かつグルタミン酸の細胞膜の透過性について明確にした詳細な研究結果を取りまとめたものである。

著者は *n*-パラフィンを炭素源としてグルタミン酸を生成する新菌株 *Corynebacterium alkanolyticum* を分離した。本菌の対数増殖期にペニシリンなどの β -ラクタム系抗生物質を添加すると多量のグルタミン酸とともに細胞膜の構成成分である UDP-*N*-acetylhexosamine とリン脂質を蓄積することを見い出した。しかもこのリン脂質の菌体外放出量とグルタミン酸の蓄積量には密接な関係があることが明らかとなった。

従来のグルタミン酸生産菌にはビオチンの要求性があり、ビオチン制限下に培養しグルタミン酸の生産を行なっているが本菌にはビオチンの要求性がない。

著者はその大部分が脂肪酸のグリセライドよりなっている膜のリン脂質に着目し、その生合成を調節するためにグリセロール要求性変異株の誘導を試みた。*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン処理によってグリセロール要求性変異株 GL-21 株を得ることに成功した。本変異株のグリセロール要求性は糖代謝系の各種の酵素活性の測定によって L-glycerol-3-phosphate: NADP oxidoreductase の欠損によるものであることを明らかにした。

本変異株をグリセロール制限下で培養すると炭素源のいかにかわらずグルタミン酸を蓄積し、また従来のグルタミン酸生産菌とはことなり、ビオチン、オレイン酸の過剰添加によってもグルタミン酸の蓄積は阻害されない。本菌を *n*-パラフィンを炭素源としてグリセロールを制限した培地で 200 l 容タンクで培養すると 72 mg/ml のグルタミン酸の蓄積を認めた。

さらにグルタミン酸を大量に蓄積する条件で培養した菌体ではグルタミン酸の細胞膜の透過性が著しく向上し、細胞のリン脂質含量の低下が認められる。これらの事実からグルタミン酸の大量蓄積は細胞膜の

リン脂質の減少によって、生合成されたグルタミン酸がすみやかに細胞外に漏出するためにおこる現象であることが明らかとなった。すなわち従来ビオチンの制限によって不飽和脂肪酸の生合成が抑制され、生合成したグルタミン酸が細胞外に漏出されるとされたが、著者はグルタミン酸の菌体外への漏出に参与するのはリン脂質であると結論した。

論文審査の結果の要旨

従来のグルタミン酸醗酵は使用される細菌がビオチン要求性を有し、ビオチン制限下に培養して大量のグルタミン酸を蓄積させる醗酵である。またビオチンの制限によって細胞膜中の不飽和脂肪酸の生合成を抑制し、グルタミン酸を菌体外へ漏出させるものと推定されている。

著者は *n*-パラフィン炭素源としてペニシリン添加によってグルタミン酸を大量蓄積する新菌株 *Corynebacterium alkanolyticum* を分離した。本菌はビオチンの要求性がないのでビオチンを制限した醗酵は不可能である。

ペニシリン添加培養でグルタミン酸の蓄積と同時に細胞外にリン脂質が蓄積し、かつ両者の蓄積量には密接な関係があることを見出した。

これらのことから本菌のグリセロール要求性変異株を誘導できればグリセロールでリン脂質の生合成を抑制できることに着目し、グリセロール要求株の誘導を試み、はじめてグリセロール要求性変異株 *C. alkanolyticum* GL 21 株を得ることに成功した。

本変異株は *L*-glycerol-3-phosphate : NADP oxidoreductase を欠損しており、ペニシリンを添加することなくグリセロール制限下に *n*-パラフィン炭素源として培養すると 72 mg/ml のグルタミン酸を蓄積する。

さらに本変異株でのグルタミン酸の細胞膜透過機構について詳細な検討を加えた。グリセロールを制限し、グルタミン酸を大量に蓄積する条件で培養した菌体はリン脂質が減少し、グルタミン酸の透過性がいちじるしく向上している。すなわち細胞膜中の脂肪酸のグリセリドであるリン脂質の生合成が抑制されて、グルタミン酸が培養液中に漏出することを明らかにした。

従来ビオチン制限下に培養した菌体では不飽和脂肪酸の生成が抑制されてグルタミン酸が菌体外に漏出すると推定されたのを一歩進めて脂肪酸のグリセリドであるリン脂質の生合成が制限されてグルタミン酸が細胞外に漏出することを明確にしたのは大きな業績である。

以上のように本論文はグルタミン酸醗酵に全く新しい知見を加えたもので醗酵生理学および微生物工業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。