

氏 名	宮 井 恭 一 みや い きょう いち
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 149 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 11 月 24 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	<i>Microbacterium ammoniaphilum</i> の L-グルタミン酸産生能 ならびにその工業的利用に関する研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 小野寺幸之進 教 授 緒方浩一 教 授 満田久輝

論 文 内 容 の 要 旨

Microbacterium ammoniaphilum とは著者が新しく分離した強力な L-グルタミン酸産生能をもつ細菌である。本論文はこの新菌を使用して L-グルタミン酸の工業生産に役立てるため行なった基礎研究を論述したものである。

著者は本菌の生育・増殖に必要な栄養環境を生化学の立場から検討しひいては本菌による工業生産を有利に導くための条件を設定することを目標として、次の事項を問題点としてとりあげ追求した。

(1) 本菌は従来より使用されている L-グルタミン酸産生菌 (たとえば *Micrococcus glutamicus*) と同じく生育因子としてビオチンを要求するが、そのほかに L-シスチンをも要求する。L-シスチンの要求量は 1~20 mg/l であるが、その効果はビオチン使用量の一定の範囲内で発現し、L-シスチン添加量の増加とともに L-グルタミン酸の生産量が増加する。これらの栄養要求性を明確にした結果、常に安定した強力な種菌を比較的短時間にうることができるようになった。

(2) 本菌の生育環境を糖濃度で規制すると、生育に対するビオチンの要求量は糖濃度によって変動し、これとともに L-グルタミン酸産生に対する至適ビオチン量も変動する。この条件を詳細に追求したところ、L-グルタミン酸産生に導く主要因子は本菌のビオチン欠乏であることがわかった。そこで菌体内外のビオチンの消長をしらべた結果、L-グルタミン酸の生成蓄積には菌体内ビオチン量が重要な意義をもつことが明らかとなった。

(3) 本菌の生育培地で糖濃度を 1, 5, 15% に調整し、これにビオチン供与量を変えて菌を培養し、さらにこれを二次培養すると、ビオチン完全供与の場合、著しい菌体の増殖と L-グルタミン酸の蓄積がみられた。そこで低糖濃度でビオチン完全供与の合成培地を用い、24 時間後、糖のみを供給してさらに培養をつづけたところ、糖の添加後に著しい菌の増殖がおけるとともに L-グルタミン酸の多量の蓄積がおこった。さらに種々条件を検討した結果、培養経過中に菌体の増殖が常に随伴するような環境は L-グルタミン酸発酵に有利であることが明らかとなった。

これらの知見に基づいて培地中の糖濃度が常に1%以下となるように規制しつつ連続的に糖を供給すると、L-グルタミン酸の盛んな産生が直線的につづけられ、また、発酵液中のL-グルタミン酸が高収率・高濃度でえられる。

(4) 表面活性剤 sorbitan monooleate は本菌の増殖およびL-グルタミン酸産生の点でビオチン完全代替性を示す。ビオチンを全く含まない培地において sorbitan monooleate の使用によって本菌の継代生育が可能であり、また、L-グルタミン酸の発酵生産の段階においても満足すべき生産が達成できる。

(5) 細菌のL-グルタミン酸産生能の特異性に関連して広く検索したところ、従来の菌と異なる栄養要求性を示すL-グルタミン酸産生菌 *Corynebacterium polymorph* を見いだした。本菌はビオチンだけでなくアミノ酸、有機塩基をも要求しない。菌体中に多量のL-グルタミン酸を蓄積するが、培地中にはわずかしこ蓄積しない。ペニシリンを添加すると、始めて菌体外に多量のL-グルタミン酸が蓄積する。L-グルタミン酸生成に関与する酵素の活性の様相も従来の菌とは異なっている。この知見はL-グルタミン酸の発酵生産には、それぞれ菌によって種々な方式が可能であることを示唆している。

なお基礎研究によって得られた種々の知見を工業的に利用しておさめた成果を総括して述べている。

論文審査の結果の要旨

L-グルタミン酸発酵はわが国で創案、開発された生化学工業である。この工業の根底となるものは使用する細菌の生化学的特性である。

本研究は *Microbacterium ammoniaphilum* と名づける新菌を利用してL-グルタミン酸を工業生産するため、基礎研究としてまず菌の栄養環境に重点をおいて生化学の立場から追求し、多くの新知見を得ている。

工業化の段階においてL-グルタミン酸の生産を有利に導くためには本菌の旺盛な生育・増殖が肝要であるという観点のもとに、その栄養環境について主要因子を探索して、ビオチンのほかにL-シスチンをも要求することを明らかにしている。この知見に基づいて前培養（種菌培養）の工程で安定した旺盛な種菌を比較的短時間の培養で得ることに成功した。また工業生産の段階でL-グルタミン酸の収率を上げる至適条件を導き出すことができた。

さらに栄養環境の追求によって天然栄養源としてのコーンスチープリカーの使用を中止し、安価な完全合成培地を設定した。ついでビオチンに代替しうる物質として sorbitan monooleate の使用を開発した。

また本菌の要求するビオチン量と糖濃度との関係、および菌体内のビオチンの意義を明らかにするとともに、糖の feeding によるL-グルタミン酸発酵生産方式を設定している。

なおビオチンを要求しない新菌を見だし、その生化学的特性を明らかにして、栄養要求性の点で従来の概念とは全く異なるL-グルタミン酸発酵生産方式の可能性を示唆している。

このように本研究は生化学ならびに生化学工業の分野に貢献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。