

氏 名	木 村 一 雄 き むら かず お
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	論 理 博 第 50 号
学位授与の日付	昭 和 39 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	Biochemical Studies on Amino acids Production by Micrococcus glutamicus (Micrococcus glutamicus のアミノ酸生成に関する生化学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 田 中 正 三 教 授 後 藤 良 造 教 授 国 近 三 吾

論 文 内 容 の 要 旨

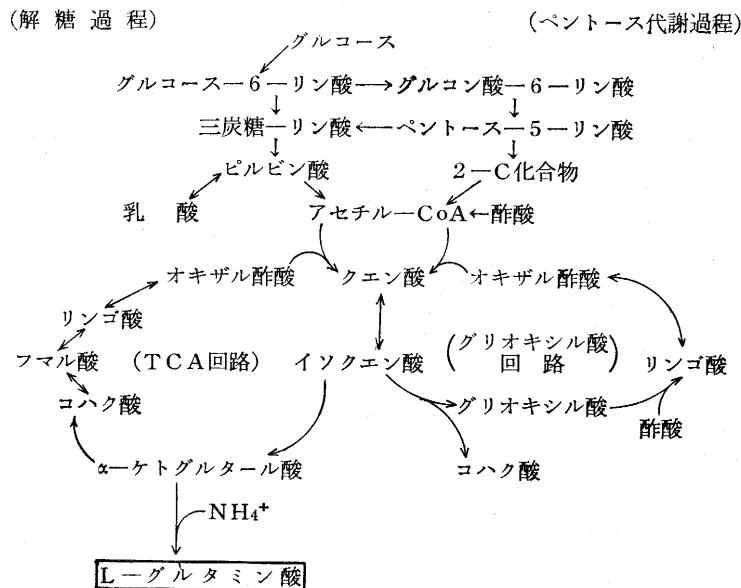
微生物が、その生育過程で特殊栄養素の不足のために正常の代謝が行なわれなくなり、培地中に多量の間代謝産物を蓄積することがしばしばみられる。ビオチンの欠乏条件下で *Micrococcus glutamicus* が大量に L-グルタミン酸を産生するのはこの一例であり、いわゆるグルタミン酸醗酵と呼ばれて工業的に利用されている。著者の学位論文は、この菌による L-グルタミン酸蓄積の生化学的機作に関する研究である。

主論文は 3 部よりなり、第 1 部はこの菌のアンモニア固定に関係する酵素について研究したものである。糖とアンモニアから微生物が酵素的に L-グルタミン酸をつくるにはいくつかの異なる途がある。その一つは糖の中間代謝産物である α -ケトグルタル酸に Glutamic dehydrogenase (I) の作用でアンモニアが直接的に還元固定されるケースである。また間接的な L-グルタミン酸の生成には、糖の中間代謝産物のフマル酸に Aspartase (II) の作用でアンモニアが付加して、まずアスパラギン酸を生じ、これと α -ケトグルタル酸との間で Glutamic-aspartic transaminase (III) の働きでアミノ基転移がおこって L-グルタミン酸ができる場合と、L-alanine dehydrogenase (IV) の作用でピルビン酸とアンモニアから、まずアラニンができ、これと α -ケトグルタル酸との間で Glutamic-alanine transaminase (V) の作用によってアミノ基が転移して L-グルタミン酸ができるケースとがある。著者は *Micrococcus glutamicus* の五つの変異株 (No. 560, No. 541, No. 901, No. 534-Co147, No. 615-305) について上述のいずれの酵素系によってグルタミン酸がつくられているかを明らかにするため、細胞の超音波処理でえられた酵素液の (I) から (V) までの酵素活性を詳細にしらべたところ、いずれの変異株でも (I) が圧倒的に活性が強く、例えば No. 541 での相対的活性は (I) 102, (II) 0.3, (III) 47.5, (IV) 0.0, (V) 9.8 であった。したがって、*Micrococcus glutamicus* では L-グルタミン酸は glutamic dehydrogenase によるアンモニアの直接的還元固定でつくられることが明らかになった。この Glutamic dehydrogenase は NADP を助酵素とするもので、NAD はほとんど作用がなく、また、培地のピチオン濃度によって、この酵素の産生は影響をうけることが少なく、0.5~10 μ g/L の濃度範囲では活性に大きい変動がないことも明らかにされた。

第2部は、培地中のビオチン量と L-グルタミン酸その他のアミノ酸類の生成量との関係や菌体の蛋白量とそのアミノ酸組成におこる変化などを詳細にしらべたものである。ビオチン欠乏培地 (2.5 μ g/L) で生育した菌と十分量の ビオチンを含む培地 (25 μ g/L) で増殖したものとの間では、単位細胞当りの L-グルタミン酸の生成量に大差があり、前者は後者の約 200 倍に達し、また、アラニン、ヒスチジンなどの生成量も前者のほうが遥かに多量であった。しかし、菌体蛋白量とそのアミノ酸組成には著しい差異が認められず、僅かにプロリンなどの含量に多少の差がおこっているに過ぎなかった。

第3部では、糖の代りに炭素源として酢酸・クエン酸・グルコン酸・乳酸・リンゴ酸・フマル酸・コハク酸・プロピオン酸・ギ酸・グリコール酸のナトリウム塩を用い、菌の生長量、L-グルタミン酸の生成量および酸素の消費量などをしらべて、この菌の糖代謝経路について検討した。これらの有機酸のうち、グルコン酸と酢酸とはこの菌によってグルコースと同じ程度によく利用され、ビオチン欠乏条件下では多量の L-グルタミン酸を生成した。また、コハク酸、フマル酸、リンゴ酸などの TCA 回路構成有機酸類もかなりよく利用されるが、これらの場合にはビオチン以外の生長促進因子を添加する必要があった。クエン酸はあらかじめこの有機酸を含む培地で馴致培養した菌によってのみ速かに利用され、ビオチン欠乏条件下で大量の L-グルタミン酸を生じた。乳酸とプロピオン酸はかなりの時間経過ののち利用されるようになるが、ギ酸とグリコール酸の利用は困難であった。

これらの事実と参考論文所載の研究結果とから、著者は *Micrococcus glutamicus* の糖代謝には 解糖過程、ペントース代謝過程、TCA 回路、グリオキシル酸回路が関係していると推定している。



しかし、ビオチン欠乏条件下で生育した菌では、解糖作用の活性が低下し、コハク酸や α -ケトグルタル酸の酸化能や L-グルタミン酸の分解能が著しく弱くなっており、また、グリオキシル酸回路の Isocitritase の活性がほとんど認められなかった。これらの結果を総合して、著者は *Micrococcus glutamicus* はビオチン量が十分な条件下では糖をほとんど完全に酸化分解するが、ビオチン量が制限された状態では

種々の酵素活性が低下し、糖代謝は主としてペントース代謝過程、TCA 回路を通して行なわれるようになり、 α -ケトグルタル酸を蓄積するようになる。この α -ケトグルタル酸に、あまりビオチン濃度に影響されない Glutamic dehydrogenase が作用してアンモニアが還元固定され大量のグルタミン酸が生成するようになると結論している。

参考論文その 1 は *Micrococcus glutamicus* にグルコース-6-リン酸脱水素酵素、グルコン酸-6-リン酸脱水素酵素、Malic enzyme などが存在することを明らかにした研究であり、その 2 はビオチン量、酸素分圧、アンモニア量の変化によるこの菌の醗酵型式転換についてしらべたものである。またその 3 は前述の Isocitritase のほか Isocitric dehydrogenase や Glyoxylic dehydrogenase の存在を確証した研究であり、いずれも主論文の推論を支える根拠となったものである。

その 4 はトウモロコシに含まれている *Pythium* の孢子形成促進物質の研究に関するものである。

論文審査の結果の要旨

必須生長促進物質のビオチンの量が制限された条件下では *Micrococcus glutamicus* は糖とアンモニアから多量の L-グルタミン酸を産生して培地中に蓄積するようになる。このいわゆるグルタミン酸醗酵と呼ばれる現象について基礎化学的立場からの解明を与えようとしたのが著者の学位論文である。

この菌には糖の代謝酵素系として解糖過程、ペントース代謝過程、TCA 回路、グリオキシル酸回路などが関与していることが認められ、ビオチンの量の十分な培地では、糖はほとんど完全に酸化分解されて中間代謝産物の蓄積はみられない。しかし、ビオチン量が制限された条件下では大量の L-グルタミン酸やアラニン、ヒスチジンなどのアミノ酸を蓄積するようになる。この菌では L-グルタミン酸は、Glutamic dehydrogenase による α -ケトグルタル酸へのアンモニアの直接的還元固定でつくられるが、この酵素の産生は培地のビオチン濃度によってあまり影響されない。しかし、解糖作用の活性やコハク酸、 α -ケトグルタル酸の酸化能、L-グルタミン酸の分解能などは、ビオチン欠乏条件下で生育した菌では著しく低下し、また、グリオキシル酸回路の酵素である Isocitritase の活性もビオチン欠乏菌には認められなくなる。

このような事実から、ビオチン欠乏菌では糖代謝は主としてペントース代謝過程と TCA 回路を通して行なわれるようになると推測されるが、 α -ケトグルタル酸酸化能の低下のために、この有機酸が蓄積し、これにアンモニアが固定されて大量の L-グルタミン酸の生成がおけると推論された。

以上述べたように、著者の学位論文は特殊栄養因子の欠乏条件下での代謝異常によって微生物が特定の生産物を大量に産生する原因を主として酵素的立場から解明したものであり、微生物の代謝生化学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。