

氏 名	清 水 伸 しみず しん
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	論 工 博 第 894 号
学位授与の日付	昭 和 51 年 5 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	Studies on Production of Coenzyme Q and Ergosterol by Hydrocarbon-utilizing Microorganisms (炭化水素資化性微生物による補酵素Q及びエルゴステロールの生産に関する研究)

論文調査委員	(主 査) 教 授 福 井 三 郎	教 授 河 西 三 省	教 授 松 浦 輝 男
--------	----------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は緒論，第1部，第2部，第3部，結論より成り，*n*-アルカンを利用して増殖する微生物による補酵素Q及びエルゴステロール生産について行った著者の研究成果をまとめたものである。

緒論は4章より成り，炭化水素の微生物による代謝経路，補酵素Qの化学的性質，生理的役割及び生合成経路，炭化水素の醗酵による補酵素Q生産の可能性と理論的・実証的意義，本研究の概要を述べている。

第1部は5章より成り，第1章は多種類の酵母，細菌，糸状菌を炭化水素培地に培養し，増殖と補酵素Q生産を比較した結果をまとめている。次に試験した微生物のうち最も優れた補酵素Q生産性を示した *Candida tropicalis* pK233 が *n*-アルカン培地で生産する補酵素Qの構造を種々の方法で調べて，補酵素Q₉が主体であることを確認し，また培養経過と補酵素Q生産との関係を明らかにしている。

第2章は *n*-アルカンを炭素源とする醗酵における補酵素Qの生産にたいする芳香族化合物添加の効果を取り扱っている。補酵素Qは2, 3-ジメトキシ-5-メチルベンゾキノン部とイソプレノイド側鎖の2部分から成っているが，*n*-アルカンの醗酵においては後者の生合成の前駆物質となるアセチル CoA が豊富に供給されるのにたいし前者の生合成速度が劣るものと推定し，その推定に基き前者の生合成前駆体として有効であると予想される種々の芳香族化合物を *n*-アルカン培地に添加して効果を調べている。有効性が認められた芳香族化合物のうち，特に *p*-ヒドロキシ安息香酸を *n*-アルカン培地に適量添加することにより *C. tropicalis* pK233 の補酵素Q生成を著しく増大せしめうることが発見された。

第3章では *C. tropicalis* の増殖と補酵素Q生産にたいする炭素源としての種々の鎖長の *n*-アルカン，各種の糖，クエン酸回路の有機酸，種々の低級アルコール，低級脂肪酸の被利用性を比較し，比較的短鎖の *n*-アルカン (C₁₀~C₁₂) がこの菌においては良好な結果を与えることを示している。第4章は培地成分の影響をいろいろ検討した結果をまとめており，Ca²⁺，Fe³⁺，リンゴ酸，適当な非イオン表面活性剤の有効性を認めている。

第5章は最適の培地組成と培養条件のもとに、*p*-ヒドロキシ安息香酸を適宜添加しつつ *C. tropicalis* pK233 を培養することにより、補酵素Q生産量を培地 1l あたり約 50 mg の割合にまで高めた結果を述べている。この生産量は充分工業的に実用化しうる成績である。

第2部は*n*-アルカンに生育する場合の *C. tropicalis* pK233 の呼吸系における補酵素Qの役割を知るために行った研究結果をまとめたものである。本酵母の培養経過に伴うチトクローム類の消長と補酵素Qの消長との対比、各種の呼吸系阻害剤の作用などから、補酵素Qが本酵母の*n*-アルカンを利用する増殖と共役する末端電子伝達系において重要な役割を演じることを示唆する情報が得られている。また*n*-アルカン培地で*p*-ヒドロキシ安息香酸添加時に生産された補酵素Qの *C. tropicalis* pK233 細胞内における局在性を調べて、本培養条件下で著増した補酵素Qは本来の存在部位であるミトコンドリアに含まれる以外に、相当部分が細胞質内に存在することを明らかにしている。

第3部は生理活性を有するイソプレノイド化合物の1つとしてエルゴステロールの生産を*n*-アルカン培地に生育しうる種々の酵母を用いて企てた結果をまとめており、*C. tropicalis* pK233 を用いる最適培養条件において培養液 1l あたり約 70 mg の収量をあげたことを述べている。

論文審査の結果の要旨

炭化水素を炭素源とする醗酵により有用物質を生産する企ては醗酵化学、石油化学の両者にとり理論面からも応用面からも有意義な新分野として注目を集めている。

本論文は*n*-アルカンを炭素源として利用する微生物の補酵素Q及びプロビタミンDであるエルゴステロール生産を取り扱ったものである。*n*-アルカンは微生物菌体へ取りこまれて対応する高級脂肪酸となったのち、 β -酸化経路により次々とアセチル CoA を生じつつ分解される。このようにアセチル CoA の供給が豊富であること、強い通気下で培養が行われること、微生物菌体が親油的環境にあることなどの特徴は、*n*-アルカンの醗酵がイソプレノイド骨格を分子中に持つ脂溶性の生理活性物質の生合成に好適であることを示唆する。

本論文は、この考えに基づいて*n*-アルカン利用性微生物による補酵素Qとエルゴステロールの生産を研究した結果をまとめており、次の成果がえられている。

(1) 多種類の細菌、酵母、糸状菌の*n*-アルカン培地における生育と補酵素Q生産性、エルゴステロール生産性を比較し、それぞれに適する菌株数種を選択した。これらの菌株はいずれもグルコース培地におけるよりも*n*-アルカン培地に生育した場合に多量の補酵素Qおよびエルゴステロールを生産した。

(2) 最も補酵素Q生産性の優れた*n*-アルカン利用性酵母として *Candida tropicalis* pK233 を選び、本菌の生合成する補酵素Qが9つのイソプレノイド単位から成る側鎖を持つ補酵素Q₉を主体とすることを確認した。また本菌の呼吸系における補酵素Qの役割に関し生化学的研究を行なった。

(3) *Candida tropicalis* pK233 の補酵素Q生産性を向上させるために培地組成、培養条件などを詳細に検討し、とくに補酵素Qの芳香環部分(2, 3-ジメトキシ-5-メチルベンゾキノン部)の前駆体として *p*-ヒドロキシ安息香酸を*n*-アルカン培地に適宜添加することにより、培養液 1l あたり約 50 mg の補酵素Q₉の生産に成功した。

(4) *Candida tropicalis* pK233 を用いる *n*-アルカンの醗酵によるエルゴステロール生成の最適培養条件を設定し、培養液 1 l あたり約 70 mg の収量に達せしめた。

以上を要するに、本論文は微生物増殖のための新しい炭素源である *n*-アルカンの代謝の特殊性に着目し、生理活性を特つイソプレノイド化合物の補酵素Qとエルゴステロールを著量生成せしめることに成功したものであり、とくに高価な補酵素Qを高収量で生産する醗酵法を確立したものである。学術上ならびに実用上寄与するところが少なくない。

よって、本論文は工学博士の学位論文として価値あるものと認める。