



特異な微生物の能力とその開発

原 田 篤 也*

私共の研究はまず特殊な能力をもつ菌を分離し、その菌の新しい代謝あるいは生産物を見出し、またその能力を増大すべく微生物を改良し、種々な基礎、応用分野に役立たせていく一方、それぞれの菌を中心にした独自のストーリーをつくりながら、新しい学問領域を開拓していく点に特徴がある。微生物の未知な能力をひき出し、これを活用することを目的としているので、しいていえば微生物能力学といってもよいであろう。以下研究の内容を5つの項目にわけて説明する。

I. カードラン（加熱凝固性多糖類）、サクシノグルカンをつくる菌とそれらの多糖類の性質と応用¹⁾

1963年10%のエチレングリコールを唯一の炭素源とした培地で生育でき、多糖類を生産する菌を分離し、*Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 10 C3 と命名した。この糖は β -1, 3, β -1, 4, β -1, 6 のグルコシド結合からなる直鎖構造をなし、これにコハク酸がエステル状に結合した新しい多糖類でサクシノグルカンと名づけた。サクシノグルカンの生産の研究中、自然発生の突然変異株 (10 C3K) を得、この菌株が水に不溶性の加熱すると強固なゲルをつくる中性の β -グルカンを高収率で生産することを見出した。このものは99%以上 β -1, 3 グルコシド結合からなり、きわめて特徴のある物性を示した。凝固する (Curdle) の語にちなみカードラン (Curdlan) と名づけた。さらに保存菌株中の *Agrobacterium* の多くの菌株が上記の菌株と同様にサクシノグルカン類似多糖類とカードランをつくることを見出し、これを変異させてカードランのみを安定に生産させることに

成功した。カードランは粘弾性の改良、結合剤、保水剤、芳香や形態の保持剤、濃厚剤、安定剤などとしてすぐれ、食品、工業および農業分野への応用が企図されている。またカードランは実験移植癌に顕著な効力を示す重要な物質となっている。数年前よりカードランは日本、カナダ、アメリカの多くの研究者の興味をひき、¹³C NMR, X線, 電子顕微鏡, CD などの基礎研究から、さらにゲルの構造、物性、癌に対する作用機構なども研究されて来ている。多糖類は生分解をうけ、公害の少い特徴をもつので微生物多糖類は新しい素材として期待されている。ただいかに安価に生産し得るかが問題である。そのためには総合科学的な研究体制を整えることが重要であると考えている。

II. イソアミラーゼをつくる *Pseudomonas* の菌とその酵素の特性と応用²⁾

1968年アミロペクチン、グリコーゲンの分岐点の α -1, 6 グルコシド結合を強力に切る菌株を土壌より分離し、この菌を *Pseudomonas amyloclavata* SB 15 と命名した。そしてこれに関与する酵素、イソアミラーゼを結晶化し、従来デンプンの分岐点を切る酵素として知られていたプルナーゼと全く異なる酵素であることを明かにした。すなわち両酵素の活性基は異なり、イソアミラーゼはグリコーゲン、アミロペクチンに対して親和性はきわめて高く、グリコーゲンに対しての V_{max} はプルナーゼの100倍にも達した。 β -リミットデキストリンのマルトースの分枝に対しての活性はきわめて低い。このような特徴からしてアミロペクチン、グリコーゲンの構造研究に役立ち、これを用いて私共の研究室のみならず国の内外の研究者が数々の重要な知見を得て来た。また工業的にはデンプンからアミロースをつくる最もすぐれた酵素

* 原田篤也 (Tokuya HARADA). 大阪大学, 産業科学研究所, 教授, 農学博士, 応用微生物学

として開発されて来ており、大豆などの植物の β -アミラーゼと共同的に作用させマルトースを生産し、さらにこのマルトースを化学的に還元してマルチトールを生産することができる。マルトースは注射薬としてグルコースよりすぐれ、マルチトールはノンカロリーの甘味剤として使用されている。

S B 15 菌株の細胞外のイソアミラーゼの作用によりグリコーゲンやアミロペクチンより生成した直鎖の短いアミロースは細胞内に入り、アミロースに特異的によく作用する新しいアミラーゼと α -グルコシダーゼの作用を受け、終局的にはグルコースになる。*Flavobacterium* M 64 のサクシノグルカンの利用の場合にも細胞外と細胞内のそれぞれの特殊なグルカナーゼによりグルコースにまで分解される。このようにして微生物による β -グルカンの利用の代謝系のモデルをも呈唱することができた。さらにイソアミラーゼの微生物学的、酵素化学的な研究をつづけている。

Ⅲ. 微生物によるエタノールから蛋白質、 O-アルキルホモセリンなどの生産⁹⁾

1966年エタノールアミンからグリシンを生産する菌株を土壌中より分離し*Corynebacterium ethanolanophilum* E 17 と命名した。ついでこの菌が種々なアルコール化合物からそれに相当する O-アルキルホモセリンを生成することを見出した。この物質はエーテルアミノ酸として始めて見出されたもので、その後私共の研究室や国内の数カ所で、種々なアルコール、グリコールで生育した場合、多くの微生物により生産されることが明かにされた。私共はこの生合成の機構を研究し、このものはメチオニン生合成系の O-アセチルホモセリンからの側道にくる物質であることを明かにした。また古くみその中から分離されていた *Hansenula miso* IFO O146 とよぶ酵母がエタノールからきわめてよい収率(80% (重量%)以上)で菌体を生産することを明かにし、エタノールから工業的な蛋白質生産の基礎を与えた。後この工業化がアメリカでなされ、日本でも開発研究がつけられている。その後メタノールから蛋白質生

産の研究が世界的なトピックの研究になったので、私共の研究は石油化学製品からの醗酵生産の端緒をつくった。ひきつづき微生物によるエタノールの利用の研究をしている。

Ⅳ. 微生物の代謝制御(アリアルスルファターゼの複合調節)と微生物の改良⁴⁾

1948年、尿中でリグニンを赤くする現象を研究し、アリアルスルファターゼを生産する微生物を発見し、その後多くの微生物がこの酵素を生産することを見出した。さらにこの生合成は SO_4^{2-} あるいはシステインによって抑制されること。*Enterobacteriaceae* の菌株では SO_4^{2-} などの抑制をチラミンが解除することがわかった。この機構を分離した種々な変異株を用いて、遺伝子解析、酵素化学、免疫学的方法でしらべ、チラミンオキシダーゼの発現が SO_4^{2-} などの抑制を解除するのに必要であることを明かにした。さらに *E. coli* などアリアルスルファターゼ活性のない潜在性酵素蛋白質をつくり、その生成もまた SO_4^{2-} などとチラミンによる制御をうけることを見出した。このような潜在性蛋白質を見出したことはきわめて重要なことで、微生物の分類、発生の基礎研究のみならず、微生物の改良研究にも貢献するものである。目下アリアルスルファターゼ、チラミンオキシダーゼの遺伝子を *K. aerogenes* から *E. coli* に導入する研究をしており、異種細菌間の遺伝子導入を微生物改良の一手段と考えている。

Ⅴ. 微生物の合成化合物に対する作用能力⁵⁾

分離用培地として10%の酢酸塩培地で *Corynebacterium acetophilum* A51 を、3%の2-ブチン-1, 4-ジオール培地で *Fusarium merismoides* var. *acetilereum* B11 を4%のアセトニトリル培地で *Corynebacterium* HR3 を、0.1%の α -ヒドロキシイソバレロニトリル(N源)の培地で *Torulopsis candida* GN 405 を、1%のエチレングリコールモノメチルエーテル培地で *Alcaligenes* MC 11 を、2%のイソフタル酸培地で *Alcaligenes* IP 4 などそれぞれ分離し、それらの合成化合物に対

する作用をしらべ、種々な特異な新しい酵素、代謝系、代謝生産物を発見した。石油化学工業などの発展で地球上の環境がいちじるしく変化している今日、特殊な合成化合物に対する微生物の作用能力の拡大あるいはその限界を知ることとはきわめて重要で、それに答えるべく種々な重要なかつ興味ある知見を与えてきた。

参考文献

1. T. Harada, ACS Symposium Series No. 45 Exfra cellular Microbial Polysaccharides, 265, 1977.
2. T. Harada, Mem. Inst. Sci. Ind. Res, Osaka Univ, 34, 39, 1977.
3. 原田篤也, 醸協誌33, 248, 1975.
4. 原田, 室岡, 山田, 東浦, 岡, 生化学, 49, 627, 1977.
5. 原田篤也, 化学, 30, 668, 1975.