



研究室紹介

応用生物工学科発酵システム工学講座

今中忠行*

1. はじめに

本講座は旧発酵工学科第1講座（醗酵生理学，培養工学）に相当し，その源は明治29年に発足した大阪工業学校醸造科にさかのぼることができる．昭和22年大阪大学工学部発酵工学科となつて以来，本学科は応用微生物学発展の歴史と共に歩み，現在では微生物のみでなく，動・植物の培養細胞にまでその対象を広げ，広く生命科学を人間生活に役立てることを使命とする学科となるに至った．

このように，バイオテクノロジーの発展を背景として学科の改組拡充が行われ，1991年4月から，応用生物工学科となっている．新学科の内容・構成については別の機会に紹介されるようなので，ここでは割愛させて頂きたい．

1991年6月現在，研究室の人員構成は今中忠行教授，松岡正佳助手，高木昌宏助手（アメリカ留学中），森川正章助手，西田佐知子技官と大学院後期課程3名，同前期課程9名，研究生6名，学部学生6名の計29名（うち外国人留学生3名）である．

本講座は，生物を工業生産に利用するために，主として遺伝子工学の利用による微生物育種，タンパク質工学による酵素機能の改良，特殊環境微生物の分離とその利用などに関する研究を行っている．以下に，最近の研究のいくつかを取り上げ紹介する．

2. 研究の概要

A) 遺伝子工学の利用による有用微生物の育種 遺伝子工学の利用における基本検討項目とし

て，宿主・ベクター系の開発と改良，特定遺伝子のクローニング，組換えプラスミドの安定化，遺伝子発現の制御，外来タンパク質の分泌生産などがあげられる．

我々の研究室で利用している宿主・ベクター系は，大腸菌 (*Escherichia coli*) をはじめとして，枯草菌 (*Bacillus subtilis*)，好熱菌 (*B. stearothermophilus*)，放線菌，酵母などである．特に好熱菌の形質転換法と有効ベクターを利用した宿主・ベクター系は世界に先駆けて開発したものである．また，ベクタープラスミドのDNA複製に関する研究を背景として，*Bacillus* 属細菌で有効なベクターを構築することができた．このプラスミドによる遺伝子クローニングの効率是世界一であると自負しており，実際，中性プロテアーゼ，アルカリ性プロテアーゼ，アミラーゼ，グルコースイソメラーゼ，プルラーナーゼ，ネオプルラーナーゼ，リパーゼ，アルコール脱水素酵素など多数の遺伝子が容易にクローニングされている．

大腸菌を宿主とした場合には，全トリプトファンオペロンを含む組換えプラスミドの安定性を検討し，特別の処置をせず500世代培養後も100%安定な宿主・ベクター系を開発し，結果として，トリプトファンの発酵生産を工業化することに成功した．放線菌を宿主とする場合には，抗生物質生合成遺伝子のクローニングや酵素生産を試み，石油資化性酵母についてはDNA複製やタンパク質の膜輸送機構を検討している．また，酵母や*Bacillus*属細菌を宿主とした外来タンパクの分泌生産も行っている．*Bacillus*属細菌においては，遺伝子発現制御因子，特に，膜を介した情報伝達機構を検討している．

* 今中忠行 (Tadayuki IMANAKA)，大阪大学工学部応用生物工学科，教授，工学博士，生物工学

B) タンパク質工学的的手法による酵素機能の改変

酵素遺伝子をクローニングし、分子設計基準に基づいて遺伝子改変を行い、酵素の改良を行うといういわゆるタンパク質工学の研究を行っている。例えば、中性プロテアーゼに疎水結合や水素結合を付加することにより、熱安定性を向上させ得ることを証明した。この中の1つの耐熱性中性プロテアーゼは、有機溶媒中で逆反応を利用することによりアスパラギン酸とフェニルアラニンの縮合を行い、人工甘味料アスパルテムの工業生産に寄与している。

その他、温度感受性リプレッサータンパクの造成、 α -アミラーゼの小型化による比活性の向上、酵素活性を消失させながら基質結合部位は保存したままの変異タンパクのダウンストリームプロセス（分離・精製）への応用、アルコール脱水素酵素の最適 pH を中性からアルカリ性へ移動させることなどを実証することができた。

C) 特殊環境微生物の分離とその利用

特殊環境とは何を指すかについては議論のあるところである。ここではまず、高温環境について考えてみよう。最も高温で生育可能な純粋分離された微生物はある種の高熱菌であり、

110℃でも生育できる。古細菌は進化の観点からも興味をもたれているが、この生理学的研究を開始している。また、中等度好熱菌である *B. stearothermophilus* についても同様の検討を加えている。

古代の地球環境は酸素の無い嫌気状態であったが、光合成生物の出現により酸素が蓄積されるようになったと考えられている。我々はこの酸素が生物に与える障害のメカニズムとその除去機構を研究している。また石油の存在する環境から、界面活性剤を生産する微生物を多数分離し、その解析を進めている。生物由来の界面活性剤（バイオサーファクタント）は親水基と疎水基を同一分子内にもつ両親媒性物質であり、生物分解可能な、環境に優しい物質である。この生合成遺伝子のクローニングと解析を行うと共に、応用に向けての展開を期している。

D) 共同研究

本研究室では、必要に応じて共同研究を積極的に進めている。国内はもとより、アメリカ、カナダ、タイなどとも具体的課題を設定している。共同研究は、相手の立場を充分配慮することにより、相互啓発と相乗効果など大いに有益であると確信している。

