

論文内容の要旨

メタノールを単一の炭素源及びエネルギー源として利用できるメタノール酵母は、その特異的な機能の解明とともにその機能を利用することによる種々の有用物質生産に関する研究が行われている。

本論文は、メタノール酵母による糖誘導体の生産プロセスを構築することを目的としている。すなわち、糖からのポリオール生産能についての酵母の検索、キシリトール生産に関する培養条件の最適化、さらには、この研究の過程で得られた変異株によるリボフラビンの生産についての研究を行った。

まず、メタノール酵母の還元能を利用してメタノール培地での糖からのポリオールへの転換活性を検索した結果、数種の菌株にソルビトール、キシリトール、ガラクトールをそれぞれ相当する糖から生産することを見いだした。この場合、メタノールは酵母の生育のための炭素源としてとともに糖の還元のための電子供与体として用いられている。その内、最も強い活性の認められた Hansenula polymorpha によるキシロースからのキシリトール生産について検討した。窒素源、pH、菌接種量、通気量、キシロース濃度等について検討し最適培養条件を設定した。その条件下で、110 g/liter のキシロースから 57 g/liter のキシリトールが生産された。

基質であるキシロース濃度についての検討中、高濃度のキシロースを添加すると生産性が減少することを認め、その原因を考察した結果、高い浸透圧による阻害によるものと結論した。そこで、耐浸透圧作用をもつとされているグリセロールの添加について詳細に検討した。その結果、5 %グリセロール添加培地においてより高いキシリトール生産性が得られ、150 g/liter のキシロースから 63.7 g/liter のキシリトール生産が達成できた。グリセロールは炭素源および電子供与体として用いられている。

次いで、ポリオール生産性のさらなる向上を目指しかつグリセロール代謝に関連した変異株を誘導している過程で、強い黄色を呈する株が得られた。この黄色物質はリボフラビンと同定された。そこで、本変異株の特質について検討したところ、酸化的ペントースリン酸経路のグルコース-6-リン酸および 6-ホスホグルコン酸脱水素酵素が欠損していることならびにトランスアルドラーゼおよびトランスケターゼが野生株より強くなっていることが明らかとなった。これにより、代謝が非酸化的ペントースリン酸経路に流れ、リボフラビンの生産を高めたものと結論した。

論文審査結果の要旨

生物機能を利用する有用物質生産プロセスの構築において、原料の選択は重要な要因である。豊富な未利用資源である天然ガスに由来するメタノールは有望な新規原料と考えられており、従来の培養基質とは異なる還元型 C₁ 化合物に独特な微生物代謝も明らかにされつつある。このような代謝機能を有用物質生産プロセスに利用する試みも、アミノ酸、ビタミンおよび補酵素などをターゲットとして研究されてきた。一方、ポリオール類は、甘味剤などの食品添加物あるいは医薬としての需要が増大しつつある。

本論文は、このような背景の下に、メタノール酵母によるポリオール生産プロセス構築のための基礎研究を行い、さらに糖誘導体であるリボフラビン生産に関して得た基礎的知見をとりまとめたものである。

まず、メタノールを培養基質および電子供与体として、それぞれ相当する糖からポリオールを生産する能力をメタノール酵母に広く探索している。その結果、ソルビトール、キシリトール、ガラクトールなどが生産されることを見だし、この成果は、化学的な水素添加法に変わり、将来的なニーズに対応してさまざまなポリオールをバイオプロセスで生産することが可能であることを示したものと評価できる。

次いで、需要が大きいキシリトールを対象として、*Hansenula polymorpha* による生産条件を詳細に検討している。培養条件の最適化の検討中に、高濃度のキシロースがキシリトール転換を抑制する現象に着目し、この現象が高浸透圧によるものであると推論した。その解決策を追求し、耐浸透圧作用が知られているグリセロールの添加が有効であることを見だしている。その結果、63.7g/liter という高いキシリトール生産量を達成することに成功している。この値は、従来法に比肩しうるものである。

さらに、耐浸透圧性に着目したより高い生産能を持つ変異株の誘導中に、培地が強く黄変する株を得、この黄色物質がリボースを構成成分とするリボフラビンであると同定している。次いで、リボース合成経路であるペントースリン酸経路の活性を野生株と比較することによりリボフラビン生産の要因を明らかにしている。リボフラビン生産量は高くはないが、メタノール酵母での知見は初めてでありまた糖代謝系についての解析は評価できる。

以上のように、本論文はメタノール酵母による糖誘導体であるポリオール、リボフラビンの生産に関していくつかの新しい知見を得たもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。