

Title	Biochemical and applied studies of microbial cyclic-amide-transformation(Abstract_要旨)
Author(s)	Soong, Chee-Leong
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2000-03-23
URL	http://hdl.handle.net/2433/181051
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

氏名	宋子良
学位(専攻分野)	博士 (農学)
学位記番号	農博第1106号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科応用生命科学専攻
学位論文題目	Biochemical and applied studies of microbial cyclic-amide-transformation (微生物における環状アミド化合物変換の生化学的および応用研究)

論文調査委員 (主査) 教授 清水 昌 教授 江崎信芳 教授 熊谷英彦

論文内容の要旨

本論文は、微生物による環状アミド化合物の新規な変換系の発見と解明、および有用物質生産への利用についての研究成果をまとめたもので、環状イミドおよびピリミジン誘導体の変換に関与する反応系の解明と、その有機酸やアミド化合物生産への利用について述べている。

第1章では、細菌 *Blastobacter* sp. A 17 p-4 の環状イミド化合物代謝において、イミド環の加水分解によるハーフアミドの生成とジカルボン酸への加水分解、ジカルボン酸の TCA サイクル様変換による異化から成る新規な経路が機能することを示した。また、この変換経路は、細菌のみならず酵母、糸状菌を含む種々の微生物に幅広く存在することを明らかにした。さらに、*Blastobacter* sp. を用いた酵素レベルの検討から、本代謝経路の初発反応とそれに続く反応に関与する二つの新規酵素、すなわち、環状イミド加水分解酵素“イミダーゼ”、および、ハーフアミド加水分解酵素“ハーフアミダーゼ”の存在を認めた。また、両酵素が環状イミドにより誘導生産されること、それぞれ環状イミド、ハーフアミドに特異的に作用することなどから、これらの酵素の環状イミド代謝における特異的機能が明らかとなった。さらに、かさ高い環状イミド化合物の加水分解には、既知の環状アミド加水分解酵素 D-ヒダントイナーゼが関与することも示した。

第2章では、微生物の環状イミド変換系を利用した有用物質生産について検討した。まず、グルタル酸イミド資化性菌 *Pseudomonas* sp. g 31 の環状イミド変換系を利用して、フマル酸からのピルビン酸への変換について検討した。その結果、酸素供給がこの変換に重要であることを認め、反応時の振とう速度を高めることにより、100 mM のフマル酸をほぼ定量的にピルビン酸へ変換できることを示した。また、フタルイミド資化性菌 *Arthrobacter ureafaciens* O-86 が化学的に等価なアミド結合を部位選択的に識別することに着目し、環状イミド (2, 3-ピリジンジカルボキシイミド) からの有用ハーフアミド (3-カルバミル α -ピコリン酸) 生産法を確立した。本反応では、基質である 2, 3-ピリジンジカルボキシイミドの水溶液中での不安定性に由来する非選択的反応を排除し、水-有機溶媒二相系反応の導入が効果的であることも示された。

第3章では、微生物の酸化ピリミジン代謝経路を検討した。ウラシル資化性菌として選抜した *Rhodococcus erythropolis* JCM 3132 が、バルビツール酸を代謝中間体とする酸化経路によってウラシルを分解代謝することを示すと同時に、酵素反応レベルでの検討から、代謝経路としてウラシル→バルビツール酸→ウレイドマロン酸→マロン酸+ウレアを経る新規経路が機能していることを示した。また、ウレイドマロン酸のマロン酸、ウレアへの変換には新規な加水分解酵素“ウレイドマロナーゼ”が関与することを認め、本酵素の諸性質を究明した。さらに、バルビツール酸のウレイドマロン酸への加水分解を触媒するバルビチュラーゼを初めて単離精製し、その諸性質を明らかにするとともに、アミノ酸配列の相同性にもとづき、本酵素がトリアジン系除草剤の分解に関与するシアヌル酸加水分解酵素の先祖タンパク質であることを示唆した。

論文審査の結果の要旨

物質生産プロセスの省エネルギー化に向け生物反応の導入が模索されるなか、多様な生産プロセスに対応するために既成

の枠を超えた新規物質変換系の開拓が求められている。著者は、主に環状イミドおよびピリミジン誘導体について微生物における環状アミド化合物の新規な変換系の探索を行い、関与する諸酵素の機能評価をとおして、物質生産のための機能素子としての有用性を検討した。成果として評価すべき点は次のとおりである。

1. 環状イミド化合物を代謝変換し資化する微生物を発見し、この能力が広く微生物に分布することを示した。
2. 環状イミド化合物の代謝経路として、イミド環の開環によるハーフアミドの生成と、ジカルボン酸への加水分解、ジカルボン酸の TCA サイクル様変換による異化を経る新規変換経路の存在を示した。
3. この変換に関与する二種の新規酵素イミダーゼとハーフアミダーゼを単離精製し、その諸性質を明らかにした。
4. 既知の環状アミド加水分解酵素 D-ヒダントイナーゼは、かさ高い環状イミド化合物の加水分解に機能していることを示した。
5. 上記の環状イミド代謝系を利用し、安価な原料であるフマル酸からピルビン酸を効率良く生産する方法を確立した。
6. 識別が容易でない等価なアミド結合に対するイミダーゼの部位選択性を利用し、環状イミドから有用ハーフアミドが選択的に効率良く生産できることを示した。
7. 微生物の酸化的ピリミジン代謝経路を酵素反応レベルで検証し、ウラシル、バルビツール酸、ウレイドマロン酸、マロン酸を経る新規代謝経路の存在を示した。
8. バルビツール酸のウレイドマロン酸への変換に関与するバルビチュラーゼを初めて単離精製し、その諸性質を明らかにした。
9. ウレイドマロン酸を加水分解しマロン酸およびウレアを生成する反応を触媒する新規酵素ウレイドマロナーゼを発見した。

以上のように本論文は、環状アミド化合物、特に環状イミドおよびピリミジン誘導体の微生物変換に関与する新規な代謝経路および酵素についての新しい知見を得、この経路の反応が有機酸や医薬品中間原料などの有用物質生産に利用できることを示したもので、応用微生物学、応用酵素学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 12 年 2 月 10 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。