

S34 光合成細菌を用いた 5-アミノレブリン酸の生産

— 光照射条件下での生産限界について —

○田中徹、宮地伸也、西川誠司、堀田康司、*佐々木健、**室岡義勝
(株)コスモ総合研究所、*広島電機大学、**大阪大学

<目的>5-アミノレブリン酸 (ALA) はテトラピロール化合物の共通前駆体として全ての生物に存在し、様々なコントロールにより生体内で低濃度に保たれている。ALA を過剰投与した場合、蓄積するプロトポルフィリンIX の光増感作用により活性酸素が生ずることが知られており、これを利用した除草剤としての応用研究が有名である¹⁾。最近では同じ原理を医療分野に応用し、癌の光動力的治療を行う研究も盛んである²⁾。

一方で、ALA 合成はテトラピロール合成の律速段階であり、低濃度の ALA の添加が動物細胞の増殖を促進し³⁾、作物の収量を向上させる⁴⁾。また、最近では ALA 添加は、微生物培養における色素やハム系蛋白の生産量を向上させることが見いだされており⁵⁾、今後様々な方面での利用が期待されている。

しかしながら、現在のところ工業的な ALA の製造法は知られておらず、ごく少量が研究試薬としてグラム数万円という高価格で流通しているにすぎない。我々は発酵法による ALA の安価な製造方法の確立を目指して研究を進めている。

<方法及び結果>微生物はポルフィリン合成能の高い *Rhodobacter sphaeroides* IFO 12203 を用いた。鉄とコバルトを厳密に除去した最小培地を用いて光照射下で培養した菌体を濃縮し、ALA の前駆体であるグリシンとコハク酸、ALA 脱水酵素 (ALAD) 阻害剤であるレブリン酸を添加したところ最高で約 2g/L の ALA を培地に蓄積した。レブリン酸の添加量を減ずるために ALAD 活性の低い変異株を取得し、引き続き、菌体の生育を改善するために ALA 生産に対して酵母エキス添加に不感受な変異株 CR-286 を取得した。菌体の生育は改善しリアクター当たりの ALA 生産速度は著しく向上したが、生産時の菌体量や光照度は ALA の蓄積量にほとんど影響を与えなかった。一方、ALA の蓄積量は培養器に依存し、体積に対して光を受ける面積の広い培養器ほど蓄積量が高い傾向が見られた。

菌体の ALA 生産能力を各菌体の受ける照度の関数と考えたモデルを設定し、各培養器毎に培養液の光の透過度を考慮して ALA 生産能力を算出した。この計算値と実際の ALA 蓄積量とを比較したところ、計算値は攪拌の影響を全く考えていないにもかかわらず、両者の間に強い相関が見られた。このモデルでは ALA 蓄積量は菌体量にも光照度にも依存せず、反応器の形状のみによって決まり、蓄積量には一定の限界値があることとなる。

このことから、研究の方向を好気暗条件下での ALA 生産に切り替え、菌の育種及び培養条件の検討により、変異株 CR-386 株を用いた好気暗条件下での ALA 生産の可能性を見いだした。更に変異株 CR-520 において光照射下の最大蓄積量と同じ ALA 蓄積を確認した。CR-520 については一般講演にて詳細に報告する。

我々の試みはまだ研究途上ではあるが、今回の結果は、光照射下でのみ機能していた光合成微生物の機能を、変異により暗条件下で発現させ得ることを初めて示した例である。

1) C. A. Rebeiz *et al.* *Enzyme Microb. Technol.*, 6, 390, (1984). 2) W. E. Grant *et al.*, *The Lancet*, 342, 147, (1993).

3) 特許第 2598726 号 4) 特許第 2613136 号 5) 割石ら 本学会予稿集

Production of 5-aminolevulinic acid by a photosynthetic bacterium.

— The productivity is limited under light illumination conditions. —

○Tohru Tanaka, Nobuya Miyachi, Seiji Nishikawa, Yasushi Hotta, *Ken Sasaki, **Yoshikatsu Murooka
(COSMO Research Institute, *Hiroshima-Denki Institute of Technol., **Dept. Biotechnol. Osaka Univ.)

<Key Word> 5-aminolevulinic Acid, Photosynthetic Bacteria, Photo-reactor