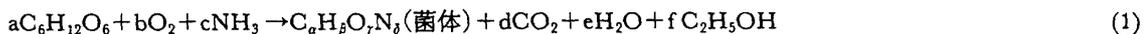


培養状態を正しく知るためには何を測定すればよいか

大阪大学工学部応用生物工学科 清水 浩

質量分析計, 濁度センサ, 酵素センサなど, センサ技術の近年における発達には目を見張るものがあり, 発酵プロセスにおいてオンライン計測できる状態量の種類が増えてきた. しかし, それでもなお, 知りたいすべての状態量がオンライン計測できるケースはまれであり, そのような時には測定された状態量から測定できない状態量を推測することが必要となる. 微生物反応を化学量論式に表わしてこれをもとに微生物の活性を推定する方法は古くからある.¹⁾たとえば, 酵母培養系であれば菌体増殖反応は,



と表わすことができる. ここで, $a \sim f$ は化学量論係数であり $\alpha \sim \delta$ は菌体内の C, H, O, および N の含量比である. (1) 式において $a \sim f$ は菌体を取りまく培地の状態によって異なる時変パラメータ, $\alpha \sim \delta$ は菌体に特有の定数となる. 反応物, 生成物あわせて 7 種類の物質を考えているが, 各反応速度を知るためにすべての反応速度測定が必ずしも必要というわけではない. それは, C, H, O, N の物質収支が系内でとれているからである. グルコース, 酸素, アンモニア, 菌体, 二酸化炭素, 水, エタノールの消費, 生成速度を各々 $r_G, r_O, r_A, r_X, r_C, r_H, r_E$ とし (消費されているものは負に表わす), 反応速度ベクトル r を $r \equiv [r_G, r_O, r_A, r_X, r_C, r_H, r_E]^T$ (2) と定義すれば, C, H, O, N の物質収支を考慮して,

$$\begin{matrix} C \\ H \\ O \\ N \end{matrix} \begin{pmatrix} 6, & 0, & 0, & \alpha, & 1, & 0, & 2 \\ 12, & 0, & 3, & \beta, & 0, & 2, & 6 \\ 6, & 2, & 0, & \gamma, & 2, & 1, & 1 \\ 0, & 0, & 1, & \delta, & 0, & 0, & 0 \end{pmatrix} r = 0 \quad (3)$$

と表わせる (左辺の行列を A とする). r が一意的に定まるためには, あと 3 つの関係式が必要となる. 培養系で簡単かつ安定に測定できる反応速度として r_O, r_A, r_C, r_E の中から 3 つを選ぶ問題を考えてみよう.

上記の候補のうち r をもっとも正確に推定するのはどのような組合せであろうか. たとえば r_O, r_A, r_C を選んだ場合関係式は,

$$\begin{pmatrix} 0, & 1, & 0, & 0, & 0, & 0, & 0 \\ 0, & 0, & 1, & 0, & 0, & 0, & 0 \\ 0, & 0, & 0, & 0, & 1, & 0, & 0 \end{pmatrix} r = \begin{pmatrix} 0 \\ r_O^m \\ r_A^m \\ r_C^m \end{pmatrix} \quad (4)$$

となる. (r_O^m, r_A^m, r_C^m は r_O, r_A, r_C の各測定値である.) 各測定値に測定誤差がまったく含まれていなければ, どの組合せを選んだとしても (4) 式の行列が正則であれば r は同じ解を得るが, 測定値に誤差が含まれる場合は推定精度に差が生じる. Grosz らは観測値の選択によって推定誤差に差が出ることを実験的に指摘していた.²⁾

同程度の大きさの観測誤差が増幅されたり縮小されたりして推定値に表われるのは (4) 式の逆行列の構造による. 正方な行列が正則でなければ (7 つの関係の内から従属なものが含まれていれば), 誤差は無限大となるが一応, 正則であっても関係式の独立性の度合いが小さいものほど誤差は増幅されやすい. (逆に, もっとも正則性の強い行列の例として単位行列を考えてみると誤差はまったく増幅されないことがわかる.) 各関係式の独立性の度合いを表わす手法として特異値解析という方法がある.³⁾ (4) 式のような観測誤差を含む線形方程式の解の相対誤差は, 行列の最大特異値と最小特異値の比の平方根 (条件数という) 以下に押さえられるという理論的な保証は我々の観測値選択において大きな手助けとなる. すなわち, 観測値の種類を決めた際にできる方程式の行列の条件数が小さいものほど推定誤差は小さくなるのである. 上記の例では, r_A, r_C, r_E の組合せを選択することが最適であり, 特に r_A は必要であるということがわかる.⁴⁾

このように, 化学量論と線形代数学を応用することにより発酵プロセスの高精度な状態推定が行えるようになるが, 最近, さらに化学量論を代謝マップ上にまで拡張して微生物反応を解析したり, 培養状態を把握しようという試みも行なわれるようになってきている.⁵⁾ センサやコンピュータの技術発展に伴って我々は培養中の多くのデータを手にすることができるようになってきた. この得られたデータをいかにまとめて生かすかが今後の課題であろう.

- 1) Coony, C. L. *et al.*: *Biotechnol. Bioeng.*, **19**, 55 (1977).
- 2) Grosz, R. *et al.*: *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 1198 (1984).
- 3) 大野ら: *化学工学誌*, **50** (11), 819 (1986).
- 4) Shimizu, H. *et al.*: *Biotechnol. Bioeng.*, **33**, 354 (1989).
- 5) Noorman, H. J. *et al.*: *Biotechnol. Bioeng.*, **38**, 603 (1991).

マイコトキシンの毒性と無毒化の努力

京都大学食糧科学研究所 北島直文

かびは種々の有用物質の発酵生産を担い、人類に大きな影響を与えてきた。かびの二次代謝物として得られる多くの抗生物質はそのひとつである。一方、同じくかびの二次代謝物であるマイコトキシンは、抗生物質とはまったく逆の方向で人類に大きな影響を与え続けている。現在の世界の穀物生産量は年間約15億トンといわれるが、その10-30%の穀物がかびによる汚染のために失われているという。かび汚染でもっとも問題になるのがマイコトキシン汚染である。現在までに300種類以上のマイコトキシンが同定されている。この中でWHOとFAOが、汚染の頻度、毒性から見て特に重要として警告しているのはアフラトキシン、オクラトキシンA、パチュリン、ゼラレノン、トリコテセン、シトリニン、ペニシリン酸の7種類である。これらのマイコトキシンは、大量に摂取した場合、急性毒性を示す。したがって、その因果関係は比較的明瞭に推察できる。しかし、少量摂取の場合や慢性毒性については、実験的には肝臓や腎臓に障害を引き起こすことが知られているが、その原因と結果を同定することは困難な場合が多い。さらに困難かつ重要な問題は発癌性である。多くのマイコトキシシンに発癌性が示唆されている。

急性毒性が強いことで知られているアフラトキシンは、現在知られているもっとも強力な発癌物質のひとつもあり、肝癌、肝細胞腫瘍を惹起することが実験的に証明されている。一方、アフラトキシンは生体に取り込まれた場合、生体内で酸化を受け、エポキシドに代謝され、これがDNA中のグアニン残基を修飾することが判明している。このグアニン残基の修飾と発癌の関係をつなぐ興味ある報告が、Hsuら¹⁾とBressacら²⁾の二つのグループからなされた。Hsuらは中国における肝癌多発地域の肝癌患者の肝腫瘍細胞について、癌抑制遺伝子と目されているp53遺伝子を詳細に検討した結果、半数の患者においてコドン249の第三番目の塩基に変異が認められ、これはグアニン→チミン、グアニン→シトシンの変異に基づくことを明らかにした。さらにBressacらのグループも南アフリカの肝癌患者の肝腫瘍細胞において、高い頻度でp53遺伝子に変異を認め、グアニン→チミンの置換によるものであると報告している。対象となった肝癌多発地帯が、アフラトキシンやB型肝炎ウイルスの汚染が憂慮される地域であること、ならびにアフラトキシンがDNA中のグアニン残基を特異的に修飾し、かつ肝癌を引き起こすことから、これらのグループはいずれも、グアニンの置換が癌抑制遺伝子のp53遺伝子に変異を生じ、肝癌の原因になっているのではないかと論じている。マイコトキシシンをはじめ、さまざまな化学物質による発癌は、遺伝子レベルでの解析が進んでいる。これに伴い、環境因子による発癌の因果関係が、従来の疫学的手法を越えて、いわば分子疫学ともいべき方法論によって明らかにされようとしている。これは学界のみならず、社会からも熱い視線で注目されており、³⁾上記の例は、その一例と言える。

一方、食糧、食品へのマイコトキシンの混入、汚染を未然に防止し、かつ混入したマイコトキシシンを除去し、無毒化する研究も進められている。⁴⁾たとえばアフラトキシンの場合、アンモニア処理によって分解し、毒性がいちじるしく軽減することが知られている。このアンモニア処理法は、安全性の確認の上で、家畜の飼料などに対して、実用化が検討されている。また、調理や食品加工のもっとも基本的な手段である加熱によるマイコトキシンの無毒化についても研究がなされている。Kitabatake⁵⁾らはシトリニンに関して、乾燥状態で加熱した場合、無毒化には175°C以上を要するが、少量の水分を含む条件下では145°Cで無毒化が可能となることを見いだしている。この条件は油炒めやフライなどの調理条件に対応し、東南アジアなどの高温多湿の地域でこの調理法が好んで使われていることを考えると、きわめて興味深い。彼らはさらに、多量の水を含む条件下で加熱した場合には、145°Cで、分解は生じるが毒性がむしろ上昇することを認めている。このことは、マイコトキシンの毒性を、調理や食品加工などの条件を踏まえて再検討する必要性を意味している。

- 1) Hsu, I. J. *et al.*: *Nature*, **350**, 427 (1991).
- 2) Bressac, B. *et al.*: *Nature*, **350**, 429 (1991).
- 3) Beglley, S. *et al.*: *Newsweek*, October, **21**, 54 (1991).
- 4) Beaver, R.: *Trends in Food Sci. Technol.*, July, 170 (1991).
- 5) Kitabatake, N. *et al.*: *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 2240 (1991).