

## 農學博士朝井勇宣君の「酸化醱酵に関する研究」に対する

### 授賞審査要旨

本研究は朝井勇宣君が約三〇年の長きにわたつて終止一貫して行つた一聯の研究であつて、内容は、(1)糖酸化細菌の分類に関する研究、(2)酸化代謝生産物に関する研究、(3)酸化代謝機構に関する研究、(4)代謝生産物の応用に関する研究の四部門に分たれ、その間周到綿密な実験によつて幾多の新発見、新知見をもたらしたばかりでなく、応用面に於ても酸化醱酵による新工業生産の基礎を確立したものであつてその業績は本邦並に海外に於て極めて高く評価されている。

#### (1) 糖酸化細菌の分類に関する研究

本研究が開始された一九三〇年頃は炭素源に対する酸化細菌として知られていたのは概ね酢酸菌(アセトバクター)に限られる状態であつた。朝井君はたまたま乾柿から分離した酸化細菌に就てそのグルコース酸化能を研究中、殆んど定量的にグルコン酸或は $\gamma$ -ケートグルコン酸を生ずるに拘らず、酒精の酸化能の甚だ弱いことを見出したので、広く本邦産及び外来の果実類一般にわたり酸化細菌の分離を試み、三八株の新種及び変種を得た。これ等に就いて詳細に分類学的諸性質を探索した結果、特にその生化学的性質に於て既知酢酸菌と著しく異なるもののあることを発見し、な

かには全く酒精の酸化能を欠き酢酸を生じないものがあり、これ等を一律に従来の酢酸菌に所屬せしめることの不合理を指摘し、新たにグルコン酸菌(グルコノバクター)なる属を設定し、主に生化学的性質に準拠して既知酢酸菌との差を明確にし、また分離した酸化細菌の各々に就てその分類学的地位を明かにした。最近(一九五四)ライフソンは酢酸菌中周鞭毛のもののあることを見出し、これ等をアセトバクターに所屬せしめ、極鞭毛のものを分けて別に新属を設定することを提案しているが、朝井君の研究によればこの属の性質は全くグルコノバクターに一致するものであり、朝井君の新属の設定が妥当であつたことを裏書している。その後一九三九年シュードモナス属の或る種がグルコースを酸化して多量のグルコン酸を生ずることをソ連のペルヴォズバンスキーが報告したので、朝井君は下水、土壤等から新たに多数のシュードモナス属菌を分離し分類学的研究を行うと同時に、近縁菌たるセラチア属をも考慮に入れて特にそれ等の糖類、多価アルコール類、酒精の酸化能に関する生化学的性質に主点を置き、グルコノバクターと対比しつつ研究し、シュードモナス、セラチアの糖酸化に対する酸化還元電位の要求がグルコノバクターよりも著しく高いこと、言い換えれば糖酸化物蓄積のためにより高い酸化的場(振盪培養または通気培養)を必要とすること等の諸点を明かにし、新たに酸化細菌を真正酸化細菌と仮性酸化細菌とに區別することの妥当であることを提案し、アセトバクター、グルコノバクターを前者に、シュードモナス、セラチアを後者に所屬せしめた。更に最近に至り糖より酸化的に $\alpha$ -ケートグルタル酸を多量に蓄積すを細菌を多数分離し、それ等の分類学的研究を行つた結果、エシエリヒア属、エロバクター属の他に、極鞭毛の点ではシュードモナス属と一致するが糖の酸酵性、特に乳糖をよく酸酵し酸とガスを生じメチルレッド試験陽性等の性質はエシエリヒア属に類似する新細菌群を発見し、その諸性質を詳細に

検索して新たにクルイフェラ (*Kluverera*) なる新属を設定した。本属は *International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy*, Vol. 6, p 146 (1956) に登録されている。

## (2) 酸化代謝生産物に関する研究

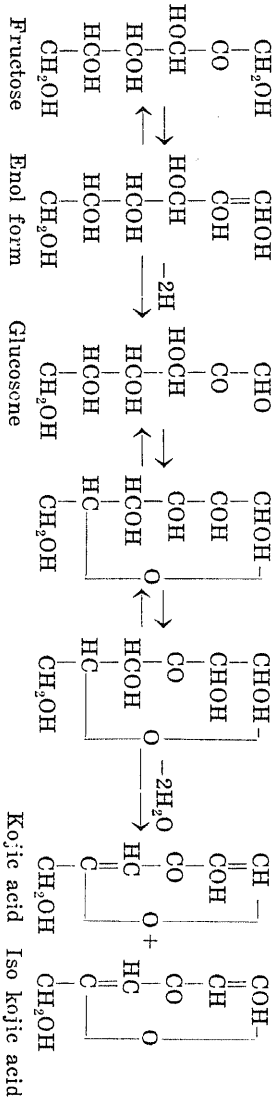
朝井君は以上得られた各種の酸化細菌を用い、酸化代謝経路解明のためまた代謝生産物の応用化をはかるため、糖類、多価アルコール類等を基質にして生産物の分離同定を広汎に行つた。確認した生産物の種類は非常に多数にのぼるが、ここには酸化細菌の代謝生産物としてその基質から初めて見出されたものと朝井君が発見、同定した新物質に就いてのみ要録する。グルコン酸菌の一種 *G. liquefaciens* は D-グルコースからグルコン酸、2-ケトグルコン酸、5-ケトグルコン酸の他にタルトロン酸、グライコール酸、酢酸及び三種のγ-ピロン誘導体を生産する。一つはコメン酸で朝井君が微生物の代謝生産物として D-ガラクトースの培養からガラクトン酸の他に初めて発見したものである、他の二つは文献未知の新物質であつて、詳細に物質の諸性質を究め、化学構造を決定して、ルビギノール *rubiginol*, (3,5-dihydroxy-1,4-pyrone) ルビギン酸 *rubiginic acid*, (3,5-dihydroxy-1,4-pyrone-2-carboxylic acid) と命名したものである。朝井君はまた本菌が 2-ケトグルコン酸から新たに 5-ジケトグルコン酸をつくること、グルコン酸、2-ケトグルコン酸、2,5-ジケトグルコン酸から上記のタルトロン酸、グライコール酸と三種のγ-ピロン誘導体を生ずることを実証した。更に朝井君は *G. roseum* を用い、D-フラクトースを基質としてグルコソソ、リダクトンの他にγ-ピロン誘導体の麴酸及び新物質イソ麴酸を生ずることを明かにした。

麩酸は斎藤賢道博士が麩酸の代謝生産物中に之を発見し、藪田貞治郎博士が其化学構造を決定した物質であるが、朝井君は酸化細菌の代謝生産物として本物質を初めて確認したのみならず、前記二種及びイソ麩酸、6-Hydroxy-2-hydroxymethyl-1,4-pyrone の三種の新γ-パイロン誘導体を発見し、その化学構造を決定したことは、海外の学界に於ても高く評価され、細菌による糖酸化代謝の型式としてγ-パイロン誘導体生成の存在を明確にしたものであつて、特筆に値する業績である。イソ麩酸はL-ソルボースからも得られた。朝井君はまた他の種のグルコン酸菌 *G. cerinus* は、D-グルコースからグルコン酸、2-ケトグルコン酸の他に焦性ぶどう酸とα-ケトグルタル酸を生ずること、グリセリンからジオキシアセトンの他にL-ガリセリン酸、グリコール酸、酢酸及び琥珀酸を生ずることを物質を分離同定して明かにした。ツルシットからはガラクトースを得た。また5-ケトグルコン酸の酸化代謝生産物を初めて追究して焦性ぶどう酸、α-ケトグルタル酸、酢酸、琥珀酸及びグリコール酸の生成を確認した。これ等は朝井君によつて初めて明かにされたことである。他面、シュールドモナス、セラチア属等の仮性酸化細菌の糖酸化代謝生産物に就いても研究を進め、*P. fluorescens*, *S. marcescens* を代表菌株として、D-グルコースからグルコン酸、2-ケトグルコン酸の他に焦性ぶどう酸、α-ケトグルタル酸、琥珀酸の生産されることを物質を分離同定して明かにし、特にα-ケトグルタル酸の蓄積は上記一種の細菌のみならず、*Bac. subtilis* 群、*Bac. succinicum*, *Escherichia coli*, *Aerobacter cloacae*, 朝井君の設定した新属 *Kluuyvera* に共通の性質であることを初めて明かにした。更にこれ等の仮性酸化細菌のD-ガラクトース、D-マンノース、D-キシロース、L-アラビノースの酸化成績物として、それぞれに相当するアルドン酸を得た他に著量のα-ケトグルタル酸を、D-ガラクトースからは新たに2-ケトガラクトン酸を、D-フラクトース、シュクロース、マルトース、ラムノースからα-ケトグルタ

ル酸を、L-イドロン酸からはほぼ定量的に2-ケト-L-グルコン酸を得た。またD-グルクロン酸の酸化代謝経路を *Fluorescens* に就いて初めて研究し本物質を適応的に酸化し中間物質として焦性ぶどう酸、 $\alpha$ -ケトグルタル酸の存在と末端酸化にTCAサイクルの関与することを明かにした。仮性酸化細菌の主要代謝生産物として $\alpha$ -ケトグルタル酸を多量(糖に対し60%)に蓄積する菌種の発見、生産条件の検討を行つて酸化醱酵の一型式としての $\alpha$ -ケトグルタル酸醱酵の確立に寄与した業績は前記新 $\gamma$ -ピイロン誘導体の発見と共に世界の学界に誇るべき業績と云える。

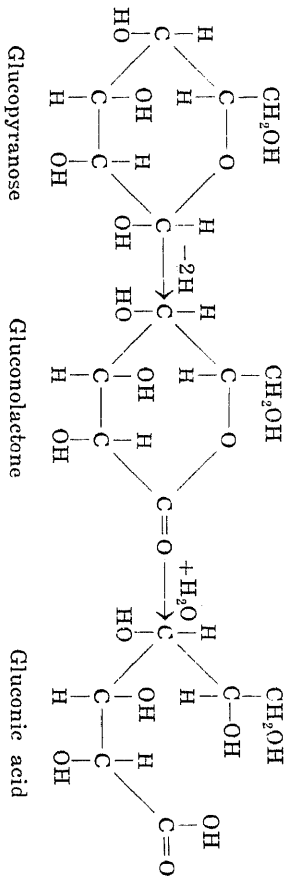
(3) 酸化代謝機構に関する研究

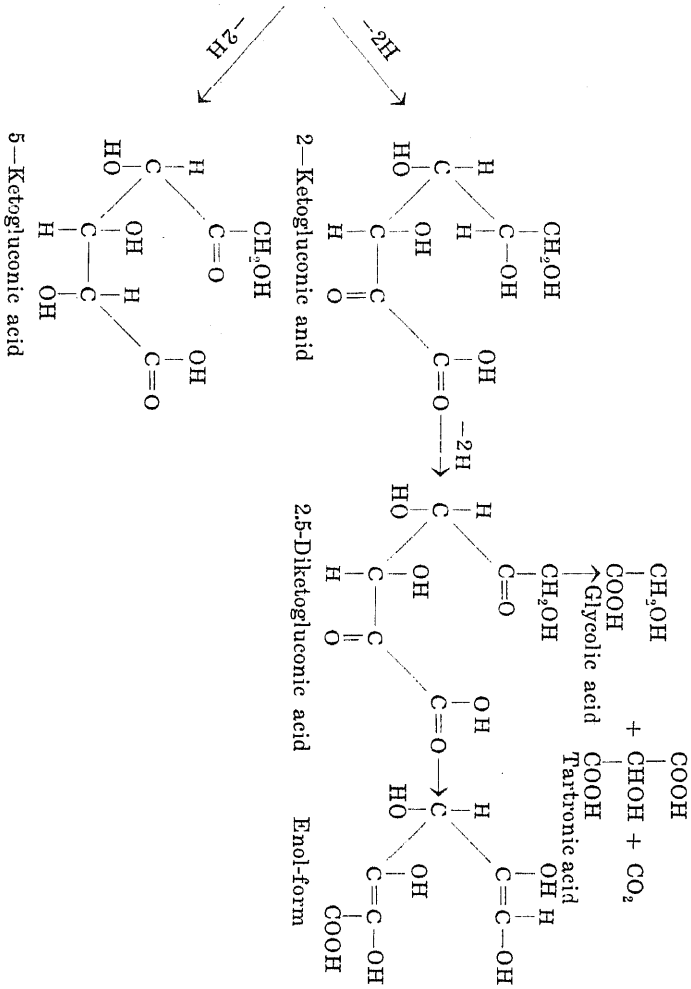
朝井君は主点をグルコン酸菌による $\gamma$ -ピイロン誘導体の生成機構に置きその解明に力を尽したが麴菌に於ける酸化醱酵の場合と異なり、 $C_5$ 、 $C_3$ 、 $C_2$ の物質からは生成されず、 $C_6$ 糖特にグルコース、フラクトース、ソルボースのみから生成される事実を明らかにし、中間体としてのグルコンンの証明、エノール化反応関与の確認等種々の実験によつて、フラクトースから麴酸、イソ麴酸の生成は次式に従つて行われるという結論に達した。

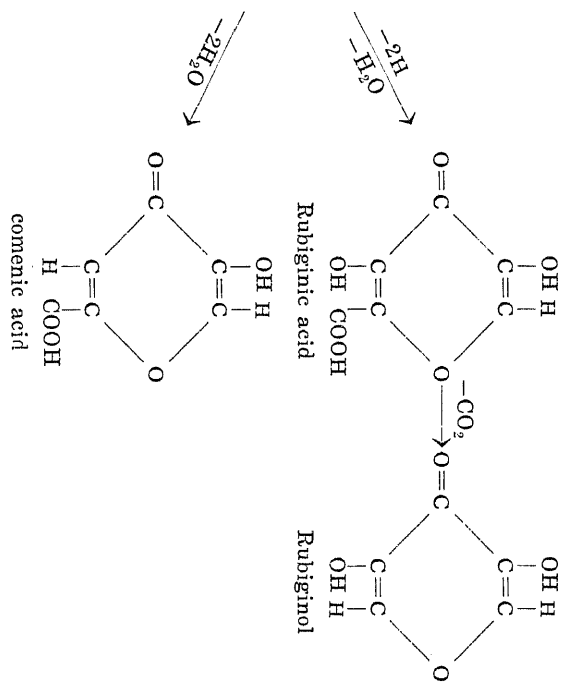


グルコースからルビギン酸、ルビギノール、コメン酸及びグリコール酸、タルトロン酸の生成機構に就いては、これ等の物質がグルコース↓グルコン酸↓2-ケトグルコン酸↓2,5-ジケトグルコン酸の径路を通つて生成されることを生菌体並びに乾燥菌体を用いて実証し且つ2,5-ジケトグルコン酸の酸化にエノール化の関与すること、ルビギン酸からルビギノールの生成されること等を明かにし、また1-C<sup>14</sup>グルコン酸を用いてこの径路の正しいことを実験し、結局その生成の化学機構は前記麴酸、イソ麴酸生成の場合とほぼ同様な脱水素、エノール化、脱水の諸反応にもとづいて行われる直接酸化であることを明かにした。

生成式は次の如くである。

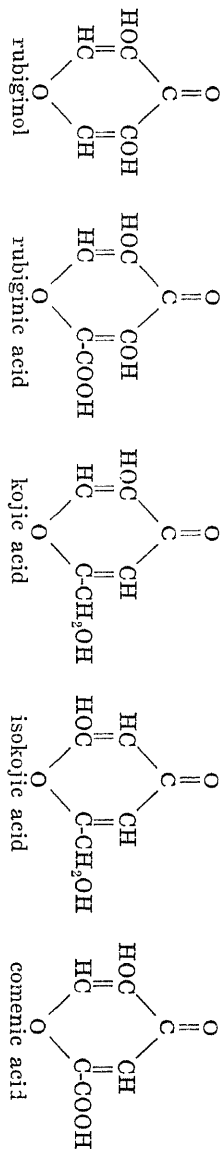






尚朝井君の得た五種のγ-バイロン誘導体の化学構造は次の如くである。





また朝井君は、グルコン酸菌による $\alpha$ -ケトグルタル酸、焦性ぶどう酸の生成機構に就いても実験を重ね、被酸化基質の種類、生成の时期的ずれ、及び生産物の培養経過中に於ける消長等の実験結果からグルコース $\rightarrow$ グルコン酸 $\rightarrow$ 2-ケトグルコン酸 $\dots\rightarrow$ 焦性ぶどう酸 $\dots\rightarrow$  $\alpha$ -ケトグルタル酸の経路をたどるべきことを証明している。

(4) 代謝生産物の応用に関する研究

朝井君は以上の基礎的研究を行つたから、グルコン酸菌、シュードモナス属菌によるグルコン酸、2-ケトグルコン酸(イソビタミンCの原料)、5-ケトグルコン酸の多量生産菌の分離、生産条件の検討を行つて、世界にさきがけて(一九三〇)、細菌によるグルコン酸の工業的製造を実施せしめ、またビタミンCの原料としてのソルボース生産に対し朝井君の分離したグルコン酸菌を用い、通気回転ドラム式培養、通気攪拌式培養の両方式に就いて詳細に生産条件を研究し、本邦に於いて初めてその工業的生産を実施せしめた。朝井君はまた別にグルコースを原料としグルコン酸菌、シュードモナス属両菌の酸化作用によりビタミンC前駆体としてのL-2-ケトグルコン酸を製造する方法を案

出し、中間工業試験の結果ビタミンCを現行法より経済的に生産し得る見込を立てた。就中 $\alpha$ -ケトグルタル酸の多量生産菌の分離検索、生産条件に就いては広汎綿密な実験を重ね、糖に対し60%の高収率で該酸を得ることに成功し、近時アミノ酸醸酵として一躍有名になつたL-グルタミン酸の微生物による製造法の確立に寄与した業績はひとり学界のみならず、産業界にも極めて高く評価されている。

#### 附、リゾープス属微の酸化醸酵に関する研究

朝井君は以上略記した細菌の酸化醸酵に関する一連の研究の他にリゾープス属微によるフマール酸の生成機構に就いて研究し、特に故高橋偵造博士との共同研究に於て酢酸の脱水素的縮合による琥珀酸の生成を生菌体反応にて証明し(一九二七—八)、それまで仮説の域を出なかつたツンベルグ・ウィーランド反応が微生物の酸化代謝過程に於て実際に進行することを世界にさががけて実証した業績は生化学上重要な業績として外国諸文献にも広く引用されている。また同微によるフマール酸、乳酸の工業的生産に関する基礎的研究を実施し、その多量生産の方法を確立した。

### 要 約

これを要するに本研究は糖及びアルコール酸化細菌の殆んど全般にわたり、朝井君が分離同定した多数の新菌株をも含めて、その総合的分類法を設定し、その間新属、新種の設定等の分類学上貴重な業績を残し、またこれ等の細菌を用いて詳細に各基質に対する酸化代謝生産物を追跡して前人未踏の分野を拓き、数多の新代謝物質を分離同定し、就中ルビギノール、ルビギン酸、イソ麴酸等の新物質を発見し、その一々に就いて化学構造を決定し、細菌の糖酸化

代謝の一新型式としてγ-パイロン誘導体生成の存在することを世界にさががけて明かにし、更にその生成機構に就いて研究を進めその解明をもたらしたものであつて、これ等の業績は學術上極めて高く評価されている。朝井君はまた他の酸化代謝の型式としてα-ケトグルタル酸醗酵の普遍性を数多の酸化細菌に就いて実証し、生体酸化代謝上重要な酢酸の脱水素的縮合反応(ツンベルグ・ウィーランド反応)を微生物の生細胞を以て世界にさががけて実証した。これ等の貴重な學術上の業績と共に朝井君は更に応用面にも着目し、グルコン酸、2-ケトグルコン酸、5-ケトグルコン酸、ピタミンC、α-ケトグルタル酸、フマル酸、乳酸等代謝生産物の工業的生産或はその応用の研究にも歩を進め、生産の基礎を確立したものであつて、就中最近の研究になるα-ケトグルタル酸の製造に関する研究は微生物によるアミノ酸製造の端緒をつくり出したものとして、学界のみならず産業界に大きな貢献をもたらしただものと言える。

以上朝井君が約三十年の長きにわたつて終始一貫して行つた一連の研究の成果は広く微生物学上幾多の新発見、新知見をもたらし、學術上貴重な業績を印したものであつて、敢えて学士院賞に値するものとして推薦する次第である。

尚本研究の一部酸化細菌の研究に対して昭和二十八年日本農學賞を与えられた。

朝井君は以上の一連の研究の他、アセトンブタノール醗酵、酪酸醗酵、纖維素醗酵に関する研究、細菌及び糸状菌のペクチナーゼによる纖維の精練に関する研究、液内培養によるアミラーゼの生産に関する研究、アルコールの連続醗酵に関する研究、抗生物質に関する研究等広く醗酵に関する基礎及び応用研究を行い、幾多の価値ある業績を発表し、その方の發表論文の数も約五〇篇に及んでいる。