

## 農學博士有馬 啓君の「微生物の産業的利用に関する

## 研究」に対する授賞審査要旨

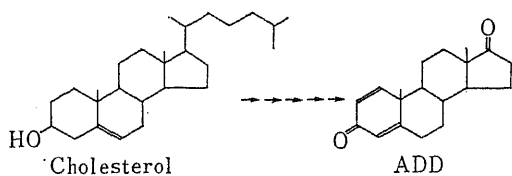
微生物の産業上の利用については、従来その酵素並びに醗酵生産物に重点がおかれたが、最近は環境浄化等の目的を以て、その物質分解能も重視されるようになった。本論文はこれらの各分野において、基礎的研究により、新しい研究成果をあげたものであって、その主なるものを挙げれば次の如くである。

先ず微生物の分解能に関する研究としては、

## 一、ベンゼン環化合物の代謝に関する研究

有馬啓君は微生物によるベンゼン環化合物の代謝に関する研究が、糖類のそれに比べて、極めて少い点に着目し、オルト、パラ、メタヒドロキシ安息香酸を基質とし、多数の微生物のうちから、それらを強く分解するものを検索し、それを用いて、ベンゼン環の酸化開環の代謝経路の研究を行い、従来知られていた主経路である、ベータケトアジピル酸経路及びアルファーヒドロキシ酸経路のほかに、新たにゲンチジン酸を経る新代謝主経路を見出し、これに関する酵素及び中間代謝物質を分離証明し、その機構を明らかにした。

右のうち、パラヒドロキシ安息香酸を基質とする研究においては、*Pseudomonas ovalis* を用いて、ベンゼン環開環に至る代謝経路の最初のステップたるパラヒドロキシ安息香酸水酸化酵素を分離結晶化して、その物理化学的性



質を明らかにするとともに、それを用いて、ミヒヤエリス・メンテンの反応式において、その必須な反応中間体としてその生成を仮定されていた酵素反応の中間生成物たる酵素と基質との複合体を、安定なる結晶として大量に分離することに成功した。有馬君は、この複合体を用いて、酵素蛋白に基質が結合することにより、結合前の酵素蛋白に比し、その反応速度が著しく（約二万倍）促進されることを初めて実証した。またこれにより、本酵素の全反応が、(一)酸化型酵素 (Fox) と基質 (S) より複合体 (Fox·S) の生成、(二)複合体 (Fox·S) の Coenzyme II (NADPH) による還元、すなわち還元された複合体 (Ered·S) の生成、及び(三)その気中酸素による酸化、すなわち基質の水酸化によるプロトカタキン酸の生成の三段階の主反応に分れることを実証し、その酵素反応機構の全貌を明らかにした。有馬君は、本研究により、環境浄化に関する文部省特定研究「微生物による環境浄化の研究」(一九七四—一九七八年)の代表者に指名されて、その研究を推進した。

二、微生物によるステロールの分解に関する研究(微生物によるステロールの側鎖切断による ADD (Androsta 1,4 diene 3,17 dione) の生成)

従来重要医薬品であるステロイドホルモン類の原料としては、メキシコ等の山地に自生する山芋 (Dioscorea) の成分なるディオステニニンが、主として用いられて来たが、近年その資源が乏し、それに代る物質の開発が急務とされ、特に資源的に豊富なるコレステロールその他の動植物ステロールの側鎖を切断してこれに導く研究が永年に亙り広く試みられて来たが、いずれも不成功に終わっている。有馬君は、先ずステロール類を完全に分解する菌株を広く探索し、そのうちの一種

Arthroacter simplex を、コレステロールを含む培地に培養し、酸酵中に *act*、*ch*、*β*、*γ*、*δ* の如き Fe キレーターを加えるという、代謝阻害剤添加酸酵法を創案し、これにより ADD を高収量をもって蓄積することに初めて成功した。また本菌によるコレステロールの分解代謝経路、並びに ADD の蓄積の機構を明らかにした。本研究は工業化せられ、男性・女性ホルモン等アンドロスタン、エストラン系の各種ステロイドホルモンの生産に新たな道を拓いたものであって、これにつき有馬君は一九七六年第三三回米国工業微生物学会総会において招待講演を行った。

次に微生物の酵素の利用については

#### 一、微生物の凝乳酵素に関する研究

チーズは世界の牛乳の全生産量の約二五%を占める大産業であって、その生産に必須とする凝乳酵素は従来専ら年四千万頭に及ぶ授乳期間中のみの雄仔牛の第四胃からの抽出に依ったが、近年肉不足のため仔牛を長期間飼育するため、凝乳酵素は消失し世界的に深刻なる不足に悩むに至っていた。有馬君はそれに代る酵素の探索の目的を以て、千余株の微生物について研究した結果、土壌より分離した *Mucor pusillus* が極めて強力なる凝乳酵素を生産することを発見し、それを結晶化してその性質を明らかにした。

本酵素においては、他の類似酸性プロティナーゼと異なり、その活性部位にヒスチジン残基の存在を証して、それが凝乳酵素としての特性の原因であることを推論し、凝乳機構に関する新見解を示した。本酵素は現在世界各国におけるチーズ製造に使用され、従来の仔牛の酵素に代り、全生産量の過半を占めるに至っている。又之により世界の肉生産に寄与した。本研究につき有馬君は、一九七二年第三六回国際酪農連合会議における開会講演に招待され、また

日本農業研究所賞及び東洋レーヨン科学技術賞を授与せられた。

二、その他の酵素に関する研究

以上のほか有馬君は、下記の微生物から新酵素を純粹に分離し、その性質を明らかにし、その利用等を研究した。すなわち、*Pseudomonas* 属細菌の *Lipoproteinlipase* ①、*Fusarium oxysporum* の不飽和脂肪酸酸化酵素②、麴菌の *Nuclease O* ③等であつて、①は人血中の *Lipoprotein* の脂肪定量に広く利用され、②はプロトヘム IX—モルを含む二原子酸素添加酵素で、これにより、不飽和脂肪酸の酵素的定量を可能ならしめ、③は微生物の死後の自己消化の最初のステップを行うことを明らかにした。

以上は、本論文の主要なる研究であるが、そのほかの醱酵生産物については、次の如き新抗生物質及び生理活性物質を分離して、その化学的構造並びに作用に関する研究を行った。*Pyrolinitrin*, *Tomaymycin*, *Bacifelacin*, *Surfactin* 等である。また有馬君は、本邦におけるペニシリン工業創始時代に当り、ペニシリン生産菌株の改良を担当し、人為変異法により、黄色色素を生成しない所謂 *Pigmentless mutant* を造り、純粹ペニシリン生産に寄与した。これに対し日本農学賞、服部報公会賞が与えられた。なお有馬君の一連の研究に対し、日本農芸化学会鈴木賞又紫綬褒章が授与された。

これを要するに、本研究は、微生物の分解能及び酵素の基礎的研究により応用微生物学上新たなる分野を開拓したものである。

## 1. 主眼な論文目録

## (一) 微生物による分解能の研究

- 1) 細菌の芳香族化合物代謝の研究  
有馬 啓・駒形和男・農田成彦 微生物による芳香族化合物の代謝に関する研究 (第一報) 細菌と人 0-*m*-*p*-monohydroxybenzoic Acid の酸化・還元' 28, 629 (昭 29)
- 2) K. Arima, K. Komagata, S. Sugiyama, M. Kazama, K. Yano: Metabolism of aromatic compounds by microbes. Part 4. Factors influencing adaptive enzyme formation of *m*-hydroxybenzoic acid splitting enzymes by *Pseudomonas ovalis* var. S-5. Bull. Agr. Chem. Soc., 19, 51 (1955)
- 3) K. Arima, K. Komagata, M. Kazama, S. Sugiyama, K. Yano: Metabolism of aromatic compounds by microbes. Part 5. Factors influencing adaptive enzyme formation of *m*-hydroxybenzoic acid and gentisic acid splitting enzymes by *Pseudomonas ovalis* var. S-5. Bull. Agr. Chem. Soc., 19, 61 (1955)
- 4) S. Sugiyama, H. Tanaka, K. Yano, K. Arima: Metabolism of aromatic compounds by microbes. Part IX. The enzymatic conversion of gentisic acid to fumarlypyruvic acid. Bull. Agr. Chem. Soc., 24, 255 (1960)
- 5) K. Yano, N. Higashi, S. Nakamura, K. Arima: The reaction mechanism of *p*-hydroxybenzoate hydroxylase and a role of the substrate as an effector. Biochem. Biophys. Res. Commun., 34, 277 (1969)
- 6) N. Higashi, H. Shoun, K. Yano, K. Arima: A new enzyme species of *p*-hydroxybenzoate hydroxylase during oxygenating process observed by the stopped-flow method. Agr. Biol. Chem., 36, 1081 (1972)

- 7) N. Higashi, H. Shoun, K. Hiromi, K. Yano, K. Arima: Kinetic studies on the ES-complex formation of p-hydroxybenzoate hydroxylase using the stopped-flow method. *J. Biochem.*, **67**, 749 (1970)
  - 8) N. Higashi, H. Shoun, K. Yano, K. Arima, K. Hiromi: Kinetic studies on the enzyme-substrate complex formation of p-hydroxybenzoate hydroxylase by the stopped-flow method. *Zeit. Naturforsch.*, **27**, 1172 (1972)
  - 9) K. Arima, M. Nagasawa, M. Bae, G. Tamura: Microbial transformation of sterols. Part I. Decomposition of cholesterol by microorganisms. *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 1636 (1969)
  - 10) M. Nagasawa, M. Bae, G. Tamura, K. Arima: Microbial transformation of sterols. Part II. Cleavage of sterol side chains by microorganisms. *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 1644 (1969)
  - 11) M. Nagasawa, N. Watanabe, H. Hashiba, M. Murakami, M. Bae, G. Tamura, K. Arima: Microbial transformation of sterols. Part V. Inhibitors of microbial degradation of cholesterol. *Agr. Biol. Chem.*, **34**, 838 (1970)
- ① 細菌の培養と酵素の抽出
- 12) K. Arima, S. Iwasaki, G. Tamura: Milk-clotting enzyme from microorganisms. Part I. Screening test and the identification of the potent fungus. *Agri. Biol. Chem.*, **31**, 540 (1967)
  - 13) K. Arima, J. Yu, S. Iwasaki, G. Tamura: Milk-clotting enzyme from microorganisms. Part V. Purification and crystallization of *Mucor-remnin* from *Mucor pusillus* var. *Lindt*. *Appl. Microbiol.* **17**, 27 (1968)
  - 14) J. Yu, G. Tamura, K. Arima: Milk-clotting enzyme from microorganisms. Part VI. Properties of crystalline milk-clotting enzyme (*Mucor rennin*) isolated from *Mucor pusillus* var. *Lindt*.

- Biochem. Biophys. Acta, **171**, 138 (1969)
- 15) J. Yu, G. Tamura, K. Arima: Milk-clotting enzyme from microorganisms. Part VIII. Active center of milk-clotting enzyme (*Mucor-rennin*) isolated from *Mucor pusillus* var. Lindt. Agr. Biol. Chem., **35**, 1194 (1971)
- 16) K. Arima, T. Narasaki, Y. Nakamura, G. Tamura: Studies on the lipoprotein lipases of microorganisms. Part I. Isolation of microorganisms which produce lipoprotein lipases. Agr. Biol. Chem., **31**, 924 (1967)
- 17) T. Narasaki, T. Saiki, G. Tamura, K. Arima: Studies on the lipoprotein lipases of microorganisms. Part II. Purification of the lipoprotein lipases produced by *Pseudomonas* sp. M-12-33. Agr. Biol. Chem., **31**, 993 (1967)
- 18) K. Arima, T. Uozumi and M. Takahashi: Studies on the Autolysis of *Aspergillus oryzae*. Part I. Conditions of Autolysis. Agr. Biol. Chem., **29**, 1033 (1965)
- 19) T. Uozumi, G. Tamura and K. Arima: Studies on the Autolysis of *Aspergillus oryzae*. Part IX. Crystallization and Properties of Nuclease O. Agr. Biol. Chem., **33**, 635 (1969)
- 20) T. Uozumi, T. Hino, G. Tamura and K. Arima: Studies on the Autolysis of *Aspergillus oryzae*. Part XI. Mode of Action of Crystalline Nuclease O on Deoxyribonucleic Acid. Agr. Biol. Chem., **36**, 434 (1972)
- 21) Y. Matsuda, T. Satoh, I. Beppu and K. Arima: Purification and Properties of  $\text{Co}^{2+}$  requiring heme protein having lipooxygenase activity from *Fusarium oxysporum*. Agri. Biol. Chem., **40**, 963 (1976)

- 22) K. Arima, H. Imanaka, M. Kousaka, A. Fukuda, G. Tamura: Studies on pyrrolnitrin, a new antibiotic. I. Isolation and properties of pyrrolnitrin. *J. Antibiotics, Ser. A*, 18, 201 (1965)
- 23) H. Imanaka, M. Kousaka, G. Tamura, K. Arima: Studies on pyrrolnitrin, a new antibiotic. III. Structure of pyrrolnitrin. *J. Antibiotics, Ser. A*, 18, 207 (1965)
- 24) K. Arima, A. Kakinuma, G. Tamura: Surfacin, a crystalline peptidolipid surfactant produced by *Bacillus subtilis*: Isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 31, 488 (1968)
- 25) A. Kakinuma, A. Ouchida, T. Shima, H. Sugino, M. Isono, G. Tamura, K. Arima: Confirmation of the structure of surfacin by mass spectrometry. *Agr. Biol. Chem.*, 33, 1669 (1969)
- 26) K. Arima, M. Kosaka, G. Tamura, H. Imanaka and H. Sakai: Studies on Tomaymycin, a New Antibiotics I. Isolation and Properties of Tomaymycin. *J. Antibiotics*, 438-444 (1972)
- 27) H. Okazaki, T. Kishi, T. Beppu, K. Arima: A New Antibiotics, Baciphelacin. *J. Antibiotics, Vol. 28*, 717 (1975)
- 28) K. Arima: Microbiological Studies on Penicillin Production Part 1. A new simple method of screening test for penicillin producing molds. *J. Antibiotics, Vol. 3*, 285-291 (1950)
- 29) K. Arima, N. Ogasawara: Part 9. On the pigmentless saltant of Penicillium chrysogenum Q176. *J. Antibiotics, Vol. 4*, 281-289 (1951)

其他論文六七篇

一、書籍・雜誌

- 1) *Microbiology for Environment Cleaning*. 1978. Scientific Reports of the Research Project



図次

- “Environment Cleaning by Microorganisms” 1974-1977, reported by the Ministry of Education of Japan.
- 2) Milk-clotting enzyme from *Mucor pusillus* Lindt “Methods in Enzymology. Vol. 19 Proteolytic Enzymes” Academic Press. N. Y. and London 1970.
- 3) Recent developments and future direction of fermentation industry of Japan. Vol. 18 Developments in industrial microbiology. 1976. Society for Industrial Microbiology.