

日本学士院賞 受賞者 清水 昌



| 略歴 | 生年 | 専攻学科学目 | 応用微生物学 |
|----|----------|--------|----------------------------|
| | 昭和二〇年 六月 | | |
| | 昭和四三年 三月 | | 京都大学農学部農芸化学科卒業 |
| | 同 四八年 三月 | | 京都大学大学院農学研究科博士課程修了 |
| | 同 四八年 四月 | | 京都大学農学部文部技官教育職 |
| | 同 四九年 七月 | | 農学博士(京都大学) |
| | 同 五〇年 七月 | | 京都大学農学部助手 |
| | 平成 元年一〇月 | | 京都大学農学部助教授 |
| | 同 四年 五月 | | 京都大学農学部教授 |
| | 同 二一年 四月 | | 京都大学名誉教授 |
| | 同 二一年 四月 | | 京都学園大学バイオ環境学部教授(平成二八年三月まで) |
| | 同 二一年 六月 | | 東レ(株)先端融合研究所長(平成二四年六月まで) |
| | 同 二三年 四月 | | 富山県立大学客員教授(現在に至る) |

農学博士清水 昌氏の「微生物の新規

機能の探索と有用物質生産への応用に

関する研究」に対する授賞審査要旨

微生物は四〇億年近くにわたって地球上に生存し、その種類はきわめて多く、それらの持つ機能や生産物もまた多様である。清水昌氏は、これら微生物群を重要な資源としてとらえ、それらの未知の能力を幅広く探索し、その発見を深く追究して、得られた研究成果を人間の生活に役立てようとする観点にたつて、長年研究を続けてきた。

清水氏は、まず微生物による脂質生産に挑戦した。油脂を構成する脂肪酸は数多く知られているが、その中でアラキドン酸は動物にとつて生理的に極めて重要なものである。しかし、それら高度不飽和脂肪酸の生合成過程を見ると、動物や植物は途中の酵素が欠損しているためアラキドン酸を直接作ることにはできない。そのためヒトはリノール酸や α -リノレン酸を必須脂肪酸として食事から摂取し、それを原料に、体内でアラキドン酸などを作っている。一九八〇年代、同氏がこの研究を始めた頃、微生物も植物と同じ生合成系

を持つというのが定説であったが、同氏はアラキドン酸を作る微生物がいるのではないかと考えこの研究に着手した。そこで多くの微生物を分離してその生産物を調べたところ、モカビの一種である糸状菌 *Mortierella alpina* がアラキドン酸を含む油脂を蓄積することを世界で初めて発見した。その量は乾燥菌体 1g あたり六〇〇mgにも及び、その脂肪酸の約七〇%がアラキドン酸であった。この発見は、アラキドン酸を直接生産しうる微生物の存在を初めて示したものとして極めて重要な発見である。そして清水氏は本菌を活用したアラキドン酸含有油脂の大量生産法を確立した。この発酵油脂を用いてアラキドン酸の研究が進められた結果、現在、アラキドン酸含有油脂は乳幼児、特に未熟児の発育に必須なものとして、世界の国々で新生児用粉乳の大部分にこの発酵油脂が添加されている。

続いて清水氏は本菌株の高度不飽和脂肪酸類の生合成経路を詳細に検討して、本菌における様々な生合成経路を明らかにし、それらを個別に誘導することに成功して、三〇種の希少な有用高度不飽和脂肪酸を選択的かつ網羅的に合成できることを示した。清水氏はさらにこの研究の過程で、乳酸菌によるリノール酸の二重結合の飽和化反応を発見し、その複雑な過程をあきらかにした。またゴマの成分であるセサミンが、アラキドン酸生成の最終段階の酵素の特異的阻害剤であることも明らかにした。

こうした清水氏の一連の先駆的な研究によって「油糧微生物」による「油脂発酵」という新しい産業分野が生み出された。

清水氏は続いて光学活性化合物の酵素的合成の研究に着手した。

その対象として、ビタミンB群の一種であるD-パントテン酸の生産工程を選び、その中間体であるD-パントラクトンを製造する工程に微生物反応を導入することを目指した。そして、*Fusarium* 属糸状菌に見出した新規酵素ラクトナーゼが、DL-パントラクトンのD体のみを立体選択的に加水分解してD-パント酸とL-パントラクトンに分割することを発見した。D-パントラクトンの加水分解率は90%以上で、生成物のD-パント酸の光学純度は90-97% eeであった。DL-パントラクトンの光学分割に本菌を活用するD-パントテン酸の新しい製造法は、従来の化学的光学分割法による製造工程と比べてかわり、年間数千トン規模の生産に適用され、エネルギー使用量では約30%の低減となり、種々の環境負荷も低減した。この工程は現在でもパントテン酸生産で使用されており、その成果は現在重視されるSDGsの観点からも高く評価されるものである。

清水氏は、上記のD-パントテン酸生産研究の過程で、ケトパントラクトンを不斉還元しD-パントラクトンを生産する菌を発見した。これは、微生物が不斉還元生体触媒として有用であることを

最初に示したものであり、高く評価される。さらに、清水氏はその発見を進展させ、多様なケトン類を不斉還元し光学活性アルコール類に変換する、汎用型の不斉還元システムの構築をめざした。そのためにもまずスクリーニングによって得られた様々なケトンを不斉還元する酵素の遺伝子をライブラリー化した。そしてNAD(P)H再生系としてのグルコース脱水素酵素と共にこれら大腸菌に組み込み、この菌体を生体触媒として使用することにより、各種ケトン化合物をそれに対応する光学活性アルコールに高い反応収率のもと、また光学純度99% eeの効率で変換することに成功した。本法は医薬品合成の中間原料としての多様な光学活性中間体の工業的合成法として世界的に活用されている。

なお、これらの成果は約700編の研究論文として公表されている。また、清水氏には米国油化学会バイオテクノロジー賞、日本化学会技術賞、日本農芸化学会賞、有馬啓記念バイオインダストリー協会賞、国際酵素工学賞などが授与され、その業績は国内外で高く評価されている。また、令和四年には文化功労者としても顕彰されている。

以上のように清水氏は探索研究を通じて微生物の新規な機能を見出し、それをもとに学術的な研究を進め、その成果を質の高い社会実装に結びつけて、バイオ産業の発展に大きく貢献してきた。

これらの研究成果はきわめて高く評価されるものであり、日本学
士院賞の授賞にふさわしいと判断する。

主 要 論 文

1 脂質発酵に関する研究

M. alpina による高度不飽和脂肪酸生産

S. Shimizu, Y. Shimmen, H. Kawashima, K. Akimoto, H. Yamada: Fungal mycelia as a novel source of eicosapentaenoic acid: activation enzyme(s) involved in eicosapentaenoic acid production at low temperature. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **150**, 335-341 (1988).

Y. Shimmen, S. Shimizu, K. Akimoto, H. Kawashima, H. Yamada: Production of arachidonic acid by *Mortierella* fungi: Selection of a potent producer and optimization of culture conditions for large-scale production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **31**, 11-16 (1989).

M. alpina IS-4 から誘導された変異株と代謝工学的手法によるアラキドン酸合成経路の改変

S. Jareonkitmongkol, S. Shimizu, H. Yamada: Occurrence of two non-methylene-interrupted Δ 5 polyunsaturated fatty acids in a Δ 6-desaturase-defective mutant of the fungus *Mortierella alpina* IS-4. *Biochim. Biophys. Acta*, **1167**, 137-141 (1993).

H. Kawashima, K. Akimoto, K. Higashiyama, S. Fujikawa, S. Shimizu: Industrial production of dhomo- γ -linolenic acid by a Δ 5 desaturase-defective mutant of *Mortierella alpina* IS-4 fungus. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **77**, 1135-1138 (2000).

M. alpina IS-4 の分子育種

E. Sakuradani, M. Kobayashi, S. Shimizu: Δ 9-Fatty acid desaturase from arachidonic acid-producing fungus: Unique gene sequence and its heterologous expression in a fungus. *Aspergillus*. *Eur. J. Biochem.*, **260**, 208-216 (1999).

E. Sakuradani, M. Kobayashi, T. Ashikari, S. Shimizu: Identification of Δ 12-fatty acid desaturase from arachidonic acid-producing *Mortierella* fungus by heterologous expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and the fungus, *Aspergillus oryzae*. *Eur. J. Biochem.*, **261**, 812-820 (1999).

S. Takeno, E. Sakuradani, S. Murata, M. Inohara-Ochiai, H. Kawashima, T. Ashikari, S. Shimizu: Establishment of an overall transformation system for an oil-producing filamentous fungus, *Mortierella alpina* IS-4. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **65**, 419-425 (2004).

PUFA 生合成阻害剤 γ -D-グルタミン酸との関連に関する報告

S. Shimizu, K. Akimoto, Y. Shimmen, H. Kawashima, M. Sugano, H. Yamada: Sesamin is a potent and specific inhibitor of Δ 5 desaturase in polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *Lipids*, **26**, 512-516 (1991).

嫌気性菌における不飽和脂肪酸飽和化代謝機構の解明

J. Ogawa, K. Matsumura, S. Kishino, Y. Omura, S. Shimizu: Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroxy-12-octadecenoic acid during microaerobic transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 1246-1252 (2001).

S. Kishino, M. Takeuchi, S.B. Park, A. Hirata, N. Kitamura, J. Kunisawa, H. Kiyono, R. Iwamoto, Y. Isobe, M. Arita, H. Arai, K. Ueda, J. Shima, S. Takahashi, K. Yokozeki, S. Shimizu, J. Ogawa: Polyunsaturated fatty acid saturation by gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **110**, 17808-17813 (2013).

II 光学活性化合物の酵素的合成に関する研究

II-1 D-パントトロン酸の新規工業的合成法の開発

有用反応の探索と評価／探索を通して見いだされた微生物のパントトロン酸の関連化合物変換反応の多様性

S. Shimizu, M. Kataoka, M.C.-M. Chung, H. Yamada; Ketopantoic acid reductase of *Pseudomonas maltophilia* 845: Purification, characterization, and role in pantothenate biosynthesis. *J. Biol. Chem.*, **263**, 12077-12084 (1988).

S. Shimizu, S. Hattori, H. Hata, H. Yamada; A novel fungal enzyme, NADPH-dependent carbonyl reductase, showing high specificity to conjugated polyketones: Purification and characterization. *Eur. J. Biochem.*, **174**, 37-44 (1988).

M. Kataoka, S. Shimizu, H. Yamada; Purification and characterization of a novel FMN-dependent enzyme, membrane-bound L-(+)-pantoyl lactone dehydrogenase, from *Nocardia asteroides*. *Eur. J. Biochem.*, **204**, 799-806 (1992).

微生物ラクトナーゼの多様性と諸性質の解明

S. Shimizu, M. Kataoka, K. Shimizu, M. Hirakata, K. Sakamoto, H. Yamada; Purification and characterization of a novel lactonohydrolase, catalyzing the hydrolysis of aldionate lactones and aromatic lactones, from *Fusarium oxysporum*. *Eur. J. Biochem.*, **209**, 383-390 (1992).

M. Kobayashi, M. Shinohara, C. Sakoh, M. Kataoka, S. Shimizu; Lactone-ring-cleaving enzyme: Genetic analysis, novel RNA editing, and evolutionary implications. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 12787-12792 (1998).

Fusarium ラクトナーゼのパントラクトン光学分割反応への導入

M. Kataoka, K. Shimizu, K. Sakamoto, H. Yamada, S. Shimizu; Optical resolution of racemic pantolactone with a novel fungal enzyme, lactonohydrolase. *Appl.*

Microbiol. Biotechnol., **43**, 974-977 (1995).

K. Sakamoto, K. Honda, K. Wada, S. Kita, K. Tuzaki, H. Nose, M. Kataoka, S. Shimizu; Practical resolution system for DL-pantoyl lactone using the lactonase from *Fusarium oxysporum*. *J. Biotechnol.*, **118**, 99-106 (2005).

II-2 酵素法による高効率カルボニル不斉還元システムの構築とキラルアルコール類の合成への展開に関する研究

還元酵素ライブラリーと補酵素再生系と共役した不斉還元触媒の構築
M. Kataoka, H. Sakai, T. Morikawa, M. Katoh, T. Miyoshi, S. Shimizu, H. Yamada; Characterization of aldehyde reductase of *Sporobolomyces salmonicolor*. *Biochim. Biophys. Acta*, **1122**, 57-62 (1992).

M. Wada, A. Yoshizumi, S. Nakamori, S. Shimizu; Purification and characterization of monovalent cation-activated levodione reductase from *Corynebacterium aquaticum* M-13. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 4399-4403 (1999).

M. Kataoka, A. Kotaka, A. Hasegawa, M. Wada, A. Yoshizumi, S. Nakamori, S. Shimizu; Old yellow enzyme from *Candida macedoniensis* catalyzes stereospecific reduction of C=C bond of ketoisophorone. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 2651-2657 (2002).

M. Kataoka, K. Yamamoto, H. Kawabata, M. Wada, K. Kita, H. Yamase, S. Shimizu; Stereospecific reduction of ethyl 4-chloro-3-oxobutanoate by *Escherichia coli* transformant cells coexpressing the aldehyde reductase and glucose dehydrogenase genes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **51**, 486-490 (1999).

不斉還元反応による様々な光学活性アルコール類の合成

S. Shimizu, M. Kataoka, M. Katoh, T. Morikawa, T. Miyoshi, H. Yamada; Stereospecific reduction of ethyl 4-chloro-3-oxobutanoate by a microbial aldehyde reductase in an organic solvent-water biphasic system. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 2374-2377 (1990).

- N. Kizaki, Y. Yasohara, J. Hasegawa, M. Wada, M. Kataoka, S. Shimizu: Synthesis of optically pure ethyl (S)-4-chloro-3-hydroxybutanoate by *Escherichia coli* transformant cells coexpressing the carbonyl reductase and glucose dehydrogenase genes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **55**, 590–595 (2001).
- M. Wada, A. Yoshizumi, Y. Noda, M. Kataoka, S. Shimizu, H. Takagi, S. Nakamori: Production of a doubly chiral compound, (4*R*,6*R*)-4-hydroxy-2,2,6-trimethyl cyclohexanone, by two-step enzymatic asymmetric reduction. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 933–937 (2003).

以上の原著論文（脂質発酵に関する研究：一二三報、光学活性化
化合物の酵素的合成に関する研究：一二七報、合計二五〇報）を含め
て、関連原著論文：四〇四報、総説・著書など：二九一