メチロトロフィーの応用

—C₁微生物と発酵工業

谷 吉樹*

最も簡単な炭素化合物、C₁化合物を出発点とする発酵工業が、その将来を囑望されている。すでに各分野、各方面での研究が着実に進められており、稼動しているものもあるが、未解決の問題もある。原料コストは他の原料とのかね合いもあって一概に優劣をきめられないが、産業の体質転換を考える現在、あらためてメリット、デメリットを熟考しておきたい。

C₁微生物とは、C-C結合をもたないC₁化合物を炭素源あるいは炭素源およびエネルギー源として生育する微生物およびそれを生成する微生物の総称である。微生物を栄養的に分類する方法として、利用可能な炭素源およびエネルギー源によって、それぞれ、autotroph, heterotroph および phototroph, chemotroph に分け、それらの組み合わせによって4種類に大別する考え方が定着している。C₁微生物はそのすべてに含まれる多様な微生物の集団であるが、発酵工業に現在比較的容易に利用可能であるという観点から本稿でとり上げるメチロトロフ (methyloleptroph) は、メタノール、メタンなどの還元型C₁化合物を利用する微生物である。すなわち、メチロトロフィー (methyloleptrophy) は炭素源の性質により heterotrophy であり、エネルギー獲得について chemotrophy である。

ところで、バイオテクノロジーの大きな柱である発酵工業の基盤となる応用微生物学の研究は、大別すると3つの要因から成っていると考えられる。まず、目的とする物質を選択するターゲットの設定、次いで、それを生産するために最も効率的なプロセスを開発するためのスクリーニング、育種および条件設定、さらに、もうひとつは原料の選択である。C₁微生物、特にメチロトロフの発酵工業への導入の機運は、この原料問題に端を発しているといえる。1970年頃からクローズアッ

プされた資源、エネルギー問題は、発酵工業においても例外でなく、またそれ以前からの食糧問題もあわせて、新しい培養原料に対する模索が進められたひとつの帰着である。

過去15年にわたって進められてきたメチロトロフの工業的利用についての研究は、1982年、ヨーロッパ最大の総合化学会社ICI(英国)が、メタノールを原料とする微生物タンパク(SCP)の商業生産を開始したことにより、ようやくその展望がひらかれたといえる。そして、その間、蓄積された基礎的な知見は、C₁微生物にさらに多彩な活躍の場を与えることが期待されている。以下、このような応用的観点にたったメチロトロフィーについて解説する。

C₁化合物と微生物

微生物が利用できるC₁化合物には、酸化型C₁化合物であるCO₂、CO、ならびに還元型C₁化合物であるメタン、メタノール、メチルアミン、ホルムアルデヒド、ギ酸がある。CO₂は、photoautotroph, chemoautotroph によって炭素源として、他の光ないし化学エネルギーを利用しつつとり込まれることは古くから知られている。このうち、光合成細菌、水素細菌などは将来工業的に期待されている。COを炭素源とする carboxydobacteria の存在も近年明らかにされている。C₁化合物を炭素源、エネルギー源とする微生物には、メタンを利用するメタノトロフ (methanotroph) およびメタノール、メチルアミンなど

* Yoshiki TANI, 京都大学農学部 生物細胞生産制御実験センター

を利用するメチロトロフがある。それぞれについて、 C_1 化合物のみを利用する偏性菌と、他の C_2 以上の化合物をも利用する通性菌がある。多くのメタノトロフはメタノールをも利用するので、メチロトロフに含める場合もあるが、メタンしか利用しないものもある。メタンはメタノールに酸化されるので、このような偏性メタノトロフでは、培地中のメタノールによっては生育が阻害されるものと考えられている。メチルアミン類も C-C 結合をもたず、 C_1 化合物としての特性を示すが、これを窒素源としてのみ利用する微生物はメタザトロフ (methazotroph) と呼ばれる。ホルムアルデヒド、ギ酸はメタノールの酸化生成物ではあるが、これらを炭素源、エネルギーとする培地に生育するメチロトロフは限られている。なお、ギ酸メチルを偏性メチロトロフが利用することがあり、C-C 結合があるので混乱を起こしかけたが、結局、最近、培地中で非酵素的加水分解が起こったためであるという結論が出ている。

一方、いろいろな有機炭素化合物から嫌気的条件下でメタンを生成する微生物も C_1 微生物に加えられ、メタノーゲン (methanogen) と呼ばれ、古くから知られているが、最近では、エネルギー (バイオガス) 生産への利用が改めて注目されている。

メタンを利用する微生物の記載は、1906 年、Delft の Söhngen による *Bacillus methanicus* が最初であるとされている。実際にはその 1 年前に他の報告があるが、この菌が 50 年後に Dworkin, Foster によって再分離されて、*Pseudomonas methanica* として登場したため、有名になっている。メタン、メタノール利用細菌についての研究は、この 50 年間のブランクを経て、その後基礎的な方面で盛んとなり、英国の Quayle らの代謝系の解析をはじめとして、1970 年代の応用的研究につながっている。分類の

基準がまだ充分に受け入れられていないので、多少の混乱はあるが、多くのグラム陰性およびグラム陽性細菌、桿菌および球菌の属にメチロトロフが知られている。

酵母については、1948 年に行なわれた分類に関する研究で使われたすべての酵母がメタノールを利用しなかったことから、以後、メタノール酵母についての記載はなかった。しかし、1969 年、緒方らによって、*Kloeckera* sp. (後に *Candida boidinii* と再同定) No. 2201 が分離されて以来、SCP 生産に対する期待も込めて、多くのメタノール酵母が得られている。おおよそ 7 属 50 株が報告され、無孢子および有孢子酵母が含まれている。

この他、メタノールを利用するカビ、放線菌、メタンを利用する酵母、メチルアミンを窒素源とする酵母など、メチロトロフィーは原核、真核微生物に広く認められる。

メチロトロフの代謝

メチロトロフの代謝は chemoheterotrophy であり、その代謝系の多くは C_2 以上の炭素化合物で知られている酵素反応を含んでいる。しかしながら、それらの系への導入部に特有の反応が存在し、他の微生物に見られない C_1 化合物の利用能力の原因となっている。メチロトロフを工業的に利用する上で、この特徴を応用することが大きなメリットを生み出すことになる。図 1 にその大要を示す。

図 1 メチロトロフの代謝

1. 酸化系

メタノール→ホルムアルデヒド→ギ酸→
CO₂の酸化系は、電子の放出を伴って進行し、エネルギー供給系として機能する。それぞれの段階で還元される補酵素は、呼吸鎖と共役する酸化のリン酸化反応による ADP のリン酸化に結びついている。それぞれの反応そのものは、他の生物由来の酵素でも触媒されるが、メチロトロフを用いた研究から、いくつかの新しい酵素が見いだされている。酵母では、ホルムアルデヒドは S-ホルミルグルタチオンを経て 2 段階反応でギ酸になる。

メタンの酸化は、細菌でのみ明らかにされ、NADH などを補酵素とする点でエネルギー要求反応である。

2. 資化系

メタノールの酸化生成物、ホルムアルデヒドのとり込みによって資化系が始まる。資化系は、初発反応すなわちホルムアルデヒド受容体の種類によって特徴づけられる 3 つの経路、リブロースリン酸経路、キシロロースリン酸経路およびセリン経路が知られている。

リブロースリン酸経路では、リブロース 5-リン酸にホルムアルデヒドがとり込まれ、他の生物では知られていない 3-ヘキスロース 6-リン酸が生成する。キシロロースリン酸経路では、キシロロース 5-リン酸とホルムアルデヒドから、グリセルアルデヒド 3-リン酸とジヒドロキシアセトンが、セリン経路では、グリシンからセリンが生成する。それぞれ EMP 経路に導かれ、アセチル CoA を経て TCA サイクルに入る。偏性メチロトロフでは、TCA サイクルは α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼが欠損し、不完全であるとされている。いずれの経路もホルムアルデヒド受容体の再生のために特徴的なサイクルをもっている。

3 つの資化系は、そのエネルギー効率が異なっており、それぞれの経路をもつ微生物の生育、菌体収率を左右する重要な因子となる。3-ホスホグリセリン酸に至るまでの再生系を含めた過程において、リブロースリン酸経路では、差し引き 1 分子の NAD の還元が、キシロロースリン酸経路

では 2 分子の ATP の消費と 1 分子の NAD の還元が、セリン経路では、3 分子の ATP および 1 分子の NADH の消費ならびに 1 分子のフラボプロテインの還元が起こる。リブロースリン酸経路をもつ偏性メチロトロフが、生育を指標としたスクリーニングでしばしば選択されるのはこのためである。

3. C₁代謝に特徴的な主な反応

a) メタノール→ホルムアルデヒド

メタノールは、いわゆるアルコールデヒドロゲナーゼによっても酸化されるが、メチロトロフには特有の 2 種類の酵素がある。ひとつは、細菌に広く認められるデヒドロゲナーゼ (EC 1.1.99.8) で、新しい補酵素 PQQ (pyrroloquinoline quinone) の存在が見いだされた。PQQ はその後、今まで補酵素のわかっていなかった他の酵素にも含まれることが明らかにされている。一方、酵母には、FAD を含むアルコールオキシダーゼ (EC 1.1.3.13) が存在している。この酵素は、他の微生物では担子菌に認められる程度であり、また菌体内含量が異常に高く (培養条件により、可溶性タンパク質の 20% 以上)、パーオキシゾームに結晶状に局在するなどの特徴がある。

b) ホルムアルデヒド→半酸

細菌では、上述の PQQ-アルコールデヒドロゲナーゼを含め少なくとも 4 種類の酵素が、ホルムアルデヒドの *in vivo* での酸化に関与する可能性がある。酵母では、この反応は 2 段階で進行し、グルタチオン関与のホルムアルデヒドデヒドロゲナーゼおよびその反応生成物である S-ホルミルグルタチオンを加水分解する酵素によって触媒される。両酵素とも、メタノール酸化に使われる酵素とは反対に、高い基質特異性を示す。

c) リブロース 5-リン酸+ホルムアルデヒド → 3-ヘキスロース 6-リン酸

リブロースリン酸経路の初発反応で、ホルムアルデヒドとリブロース 5-リン酸とのアルドール縮合により、D-アラビノ-3-ヘキスロース 6-リン酸が生成する。酵素は、3-ヘキスロースリン酸シンターゼと呼ばれる。生成した糖リン酸はイソメ

ラーゼによりフルクトース 6-リン酸に異性化される。

d) キシルロース 5-リン酸+ホルムアルデヒド→グリセルアルデヒド 3-リン酸+ジヒドロキシアセトン

メタノール酵母におけるホルムアルデヒド資化の初発反応で、ジヒドロキシアセトンシンターゼと呼ばれる一種のトランスフェラーゼによって触媒される。3分子の反応生成物のうち、1分子のグリセルアルデヒド 3-リン酸は EMP 経路に、残りの2分子と3分子のジヒドロキシアセトンはキシルロース 5-リン酸の再生に使われる。

e) グリシン+ホルムアルデヒド→セリン

セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (EC 2.1.2.1) によってテトラヒドロ葉酸関与で触媒されるセリン経路の初発反応である。この酵素は、*Escherichia coli* などではグリシンの生成に意義があるが、通性メタノール細菌では、生成したセリンがセリン-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ (EC 2.6.1.45) などにより、2-ホスホグリセリン酸に導かれる。

f) グリシン再生系

セリン経路において、ホルムアルデヒド受容体となるグリシンは、2-ホスホグリセリン酸からリンゴ酸を経て、マリン CoA リアーゼおよびイソクエン酸リアーゼ (ICL) により生成するグリオキシル酸から再生される。これを、*icl*-セリン経路と呼ぶ。ところが、イソクエン酸リアーゼ活性の認められない通性メチロトロフが多く、これらのグリシン再生系はいまだに不明である。最近、ホモイソクエン酸あるいはメサコニル CoA を中間体とする2つの経路が提唱されているが、まだ確認されていない。

培養原料としての C₁ 化合物

工業的な培養原料の評価には、さまざまな側面が考えられる。C₁ 微生物のなかでは、photo-autotroph はエネルギー源として無限ともいえる光エネルギーが利用でき、水素細菌は水素の生産法が確立されれば大いに期待できる。これらの微生物の炭素源となる CO₂ もまた資源的には無尽蔵

図2 メタノールの工業的利用

である。ただ、原料としていかに濃縮した状態で供給できるか、また、気体を原料とする場合の培養装置的な問題など、現状では未解決の問題が多い。

メタンを主成分とする天然ガスは、いまでも多くは油田の上で燃やされている重要な未利用資源である。その埋蔵量は 70 兆 m³ といわれ、石油の可採埋蔵量の数百倍と考えられる。メタンは気体であり、これから合成ガスを経て生産されるメタノールが培養原料として有利な点が多い。メタノールは、石炭、タールサンド、オイルシェールをガス化して得られる合成ガス、農産廃棄物などを嫌気発酵させて得られるバイオガスなどからも生産しうる。工業原料としてのメタノールの生産高は世界で約 1,200~1,500 万トンであり、ホルマリンの製造などに使われている。最近、酢酸の製造にメタノールを原料とする技術(モンサント法)が確立されるなど、合成化学の分野でも C₁ ケミストリーと呼ばれる石油-C₂ 原料からの脱却の試みが盛んである。また、ガソリンに代わる燃料メタノールの構想も進んでいる。このようなメタノール需要の伸びはやがて、製造プラントの大型化による価格の低下を期待させ、それがさらに広範な用途開発に結びつくと考えられる。その意味で、発酵工業へのメタノールの導入はエネルギー、資源問題と密接な関係をもち、図2のように位置づけることができる。

培養原料として広く用いられている廃糖蜜は、農業生産に依存している点で供給が不安定であり、また、均一な製品が得られないため培養管理が難しい。さらに、強い着色のため発酵廃液の処理に要するコストは少なくない。メタノールは、資源的に豊富な天然ガスを原料とするため、安定

した大量供給が可能であり、また、純度の高い製品の製造が容易である。廃液処理の面でも、クリーン原料といえる。一方、石油価格の暴騰により、一時ほど興味をひかなくなっているノルマルパラフィン¹⁾は、培養原料、工業原料として多くの優れた特質をもっている。ノルマルパラフィンがかつて SCP 原料として議論された時に指摘された微量の混入物質の存在の恐れは、メタノールの場合にはより少ない。水溶性であるため、培養液の大半を占める水との混和についてもメタノールは問題がない。

メタノールは分子内に酸素をもっているため、メタン、ノルマルパラフィンと比較すると、発酵プロセスにおいて酸素要求量が少なく、また発酵熱の発生が少ないため冷却コストが低いという特徴がある。その反面、運搬の際には、水を運んでいるのではないかともいえる。実際には、液化天然ガス (LNG) よりタンカー輸送は容易であるが、原油と比べると不利な点であろう。

エタノールは発酵生産物としてなじみ深い²⁾が、メタノールのイメージはその逆であろう。自然界では、CO₂、メタンなどの C₁ 化合物を中心に炭素の循環がなっている。メタノールはリグニンなどのメトキシル基などに由来して存在すると考えられるが、その量は多くない。果実酒などでは、ペクチン質由来のメタノールが微量含まれる。メチロトロフでも、高濃度のメタノールによる生育阻害が一般的に認められる。炭水化物、炭化水素を炭素源とする場合に比べて、メタノールの最適濃度は低く、1/5~1/10 程度である。培地にメタノールを徐々に添加する流加培養法 (fed-batch culture) を用いることによって、培地中の菌体濃度を高める方法が行なわれる。生産効率については、菌体構成成分、生産物の骨格を C₁ ユニットから構築していかなければならないというエネルギー的な不利も、メチロトロフを利用する際に考慮に入れる必要がある。

メチロトロフによる物質生産

1. 生産様式

ノルマルパラフィンからの SCP 生産が石油シ

ョック、消費者運動などにより 1970 年代前半にあいついで中断されるに至った時期に登場したメタノールなどの C₁ 化合物は、まず SCP 生産の培養原料としてとり上げられた。この時期に初めてその存在が認められ、菌体生産のための集菌の容易さなど細菌に比べていくつかの利点をもつ酵母をはじめ、数多くのメチロトロフが自然界より分離され、C₁ 微生物の世界は多様となってきた。それに伴う生化学的、微生物学的なメチロトロフに対する知識の増加が、SCP にとどまらないいろいろな有用物質の生産にメチロトロフを利用する試みを増加させている。ここで、それらをまとめて生産様式として分類してみると、3つの方法に分けることができる。

まず、メチロトロフをメタノールを炭素源とする培地で培養して、菌体成分を含む代謝産物を生産させる方法である。これは、従来の発酵工業でのいわゆる発酵法に相当するもので、廃糖蜜などの農産物に由来する炭水化物よりの原料転換を意味する。SCP のような菌体のトータルの生産およびアミノ酸、ビタミンのような一次代謝産物を目的とした研究が多く見られる。ここでは、優れた生産能をもつ菌株のスクリーニング、突然変異などによる生産能の改良ならびに生産効率を上げるための培養工学的手法が取り入れられている。したがって、原料価格、生産効率、将来にわたる安定供給などについての廃糖蜜とメタノールのメリット、デメリットに基づく競合の場である。しかしながら、メチロトロフは、炭水化物に生育する微生物の多彩さに比べると、研究の歴史が浅いせいもあり種類が少なく、現在ではむしろ C₁ 代謝の特殊性を生かした発酵法の開発研究が有利であると考えられる。

次に、メチロトロフの示す独特の機能を触媒として利用する方法がある。メチロトロフについての生化学的な研究成果が、このようなバイオリアクターの利用を可能にしている。酸化機能をはじめとして、メチロトロフのもつ特有の触媒機能を物質生産に結びつける試みがすでにいくつか報告されている。ただ、ここでも、触媒生産すなわち高い活性をもった菌体の生産のための効

率が、工業化の段階で重要な因子となってくる。

最後に、メチロトロフの培養特性を利用する方法があり、2, 3 の試みが報告されている。メチロトロフは、たとえばメタノールと無機塩からなる培地で生育し、自然界でのメチロトロフ分布の確率からみて雑菌混入の恐れは少なく、殺菌操作の省略さえ可能であると考えられる。また、偏性メチロトロフはその生育基質が限定されるので、人体感染すなわち安全性の点でメリットがある。このような培養特性を利用するために、他の生物由来の優れた機能をメチロトロフで発現させることができれば、メチロトロフの利用の場は大幅に広がるはずである。メチロトロフを対象とした遺伝子組み換えについては、ICI 社の SCP 生産菌である偏性メチロトロフ、*Methylophilus methylotrophus* のグルタミン酸合成系についての改良でまず試みられ、次いで、同菌に pGSS 15 を使って、ニワトリのオボアルブミンおよびマウスのジヒドロ葉酸レダクターゼの遺伝子の導入例が報告されている。メチロトロフの遺伝的研究も徐々に進んでおり、アイデアを生かせる場が提供されるのもそう遠くないことかもしれない。

以上、メチロトロフを用いる発酵技術の進展を生産様式で分類したが、これらが工業化プロセスに結びつく別の要因が原料価格にあることはいうまでもない。現在、60~70 円/kg のメタノール価格の推移、廃糖蜜価格の変動、他分野でのメタノールの導入など要因は多い。

次に、メチロトロフによる物質生産の研究例を分野別に具体的に述べる。

2. 食 糧

世界人口の約 3 分の 2 で動物性タンパク質が不足しているといわれ、しかも 21 世紀に向けて人口は確実に増加を続けている。この重要問題を解決する方策のうちで SCP 生産は、現状では特に飼料供給の場で有望であると考えられる。SCP 生産のための培養原料としては、食飼料と競合しないことが前提となる。農産物を培養原料として用いることは、農産廃棄物といえども飼料とし

て、また加工すれば食糧ともなることを考えると、必ずしも食糧問題の解決とはならない。1960 年代より SCP 生産の培養原料として注目された石油、特にノルマルパラフィン、その後の事情により西側諸国では工業的には使われていない。しかし、共産圏ではその後も生産研究が続けられ、ソ連での生産高は年間約 100 万トンといわれ、飼料として使われている。東ドイツ、ルーマニアでも年間約 6 万トン生産されており、特にルーマニアでは、日本で開発された技術が導入され、その優れた飼料効果が原油価格の高騰を打ち消しているといわれている。

1960 年代末より、ノルマルパラフィンに代わる SCP 生産のための培養原料として C_1 化合物、特にメタノールを利用する研究が開始された。ノルマルパラフィンよりの SCP 生産開発の際にうけた特に消費者の反応から、SCP 生産にためらいをもった西側諸国でも、メタノールの物性などのメリットから盛んな研究が行なわれた。英国、西ドイツ、日本などがその中心であるが、特に北海油田の天然ガスを背景とした英国は、 C_1 微生物の基礎的研究が進んでいたこともあり、メタノール SCP 生産の開発に熱心に取り組んだ。その結果、前述の *M. methylotrophus* を用いる ICI 社の SCP 生産プロセスが 1982 年より稼働を開始し、商業生産に入った。PRUTEEN という商品名で飼料として供給され、年産 6~7 万トンと伝えられている。その他、西ドイツのヘキスト社の開発も進んでいるようであり、日本でも技術的にはすでに確立されている。

今後、メタノールを中心とした C_1 化合物が、SCP 生産に主として利用されていくものと思われるが、SCP については、発酵技術以外の要因が強く影響を与える。原料価格の問題に加え、かつてノルマルパラフィン SCP で示された消費者サイドからの安全性をはじめとする種々の不安、不信の解消が必要となる。すでに、1979 年に、メタノール SCP の安全性に対する IUPAC のガイドラインが示されており、諸外国の動向、世界的な食糧危機をふまえた対応が迫られているといえる。

SCP 生産は、その規模において従来の発酵工業のめざしたファインケミカルズの領域を越えたものであり、メタノールの需給の動向に与える影響が大きい点でも、注目される。

3. エネルギー

原油価格の下落とともにやや下火になったとはいえ、エネルギー問題についての不安は依然として大きい。エネルギー物質生産に対する微生物の利用は、バイオマスを原料とするアルコール発酵によるエタノール生産および C_1 微生物に加えることのできるメタノーゲンによるメタンの生産を中心に研究が展開されている。

メチロトロフなどによる C_1 化合物からのエネルギー物質生産については、まだ見るべき成果はあがっていない。ここで考えられるのは、メタノールより還元的な物質、すなわち大きな自由エネルギーをもつ物質に転換することである。メタノーゲンの一種である *Methanosarcina barkeri* によるメタノールのメタンへの転換反応は、現在ではメタノール製造プロセスを逆行するものであるが、嫌気条件導入という点で示唆を与える。なお、後述するメチロトロフによる ATP 生産方式は、エネルギー転換プロセスのひとつではあるが、その効率から見て、むしろ物質転換プロセスとしてとらえられる。

4. 化学工業

ファインケミカルズからコモディティケミカルズまでを包含した有用物質生産をこの化学工業の範ちゅうに入れ、メチロトロフを利用した例を挙げる。

まず、代謝産物の生産では、アミノ酸、ビタミン・補酵素、酵素、ポリサッカライド、色素、脂質などの生産例が報告されている。なかでも、アミノ酸発酵についての研究は多く、グルタミン酸 (6.8 g/l)、セリン (4.7~24.0 g/l)、ロイシン (0.8 g/l)、バリン (2.2 g/l)、トリプトファン (0.2 g/l)、フェニルアラニン (4.0 g/l)、チロシン (1.1 g/l)、O-メチルホモセリン (3.8 g/l)、メチオニン (0.8 g/l) の生産が知られている。この

うち、セリン、メチオニンの発酵は、 C_1 代謝を直接に利用したものである。

セリン発酵は、 C_1 資化系としてセリン経路をもつ細菌のセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼを利用して、グリシンとメタノールを原料とする方法である。炭水化物を原料とする直接発酵法による生産が難しいアミノ酸のひとつであるセリンのメチロトロフによる生産プロセスは、ファインケミカルズ生産の実用例として有望視される。2分子のグリシンから1分子のセリンを生成する非メチロトロフによるセリン発酵に比べ、対グリシンの理論収率は 100% である。メチオニンは、その生合成経路において出発基質としてセリンが用いられ、また最終段階でメチル基転移反応が含まれている。セリン経路をもつ通性メチロトロフのエチオニン耐性株でかなりの蓄積が認められているが、まだ充分ではない。しかし、必須アミノ酸として、特に飼料添加用として大きな需要をもちながらも、発酵法による生産プロセスが成り立っていないメチオニンも、メチロトロフ利用のターゲットとしては好適である。

ビタミン B_{12} は、メチル基転移反応に関与することが知られており、またメチロトロフィーにおける 2,3 の重要な反応に含まれていることから、メチロトロフによる発酵生産の試みがいくつか行なわれた。その生産量は最高値で 3.2 mg/l であり、工業的な価値をもつまでには至っていないが、化学合成が難しいため、発酵プロセスの改良がいまなお続けられており、メチロトロフに対する希望も失われていない。脂溶性ビタミンの一種であるコエンザイム Q は最近医薬品としての需要が高まっている一方、メチロトロフには種々の同族体が含まれており、メチロトロフ分類の指標ともなっている。すでに、コエンザイム Q_{10} のメチロトロフによる工業生産が日本で行なわれている。将来、SCP 生産プロセスにおける副産物として生産されることになれば、さらに有効なメチロトロフ利用の一例となる。また、メチロトロフによるシトクロム c の生産研究も始まっている。

この他、メタノール酸化系の酵素類が分析用酵

図3 メタノール酵母によるATP生産システム

素として市販されている。また、水素細菌、*Alcaligenes eutrophus* の菌体成分として、SCP 生産のためには邪魔物扱いされていたポリヒドロキシ酪酸をポリマー原料として生産する ICI のプロセスも最近注目されている。

一方、メチロトロフのもつ触媒機能を物質生産系に生かす試みもいくつか見られる。ひとつは、メタノール酵母のエネルギー獲得系を利用した ATP 生産システムである。その生産系を図3に示す。メタノール酵母のメタノール酸化系、呼吸鎖酸化のリン酸化系およびアデニンヌクレオチドのサルベージ合成系の3つを組み合わせる系である。メタノール酸化系においては、ホルムアルデヒドおよびギ酸の酸化に伴って放出される電子は NAD^+ に移る。 NADH はミトコンドリアの呼吸鎖に導かれ、酸化のリン酸化反応により ADP を ATP へとリン酸化する。 ADP はアデニン、アデノシンまたは AMP より ATP 関与のキナーゼにより生成される。これらの反応系は、Zymolyase あるいはソルビトールで処理したメタノール酵母菌体に保持され、強い活性を示す。この系での ATP 生産量はアデノシンより約 100 g/l に達している。

メタン資化性菌のもつメタンモノオキシゲナーゼを利用する各種エポキシドの生産も注目される。コモディティケミカルズの中でも重要なもののひとつであるエポキシドを生産するプロセスは、 C_1 微生物の利用のみではなく、発酵工業全体

に与える影響も大きいと考えられる。エポキシド生産については、いわゆるシータスプロセスが有名であるが、実用化に至っておらず、このメタンモノオキシゲナーゼ系に期待がかけられている。 $\text{C}_2 \sim \text{C}_4$ のアルケンを相当する 1,2-エポキシドに酸化する反応は、この酵素の本来の機能ではないため、それ以上の代謝が起こらないことも有利である。

この他、コモディティケミカルズ生産にメチロトロフを利用する試みは、2級アルコールデヒドロゲナーゼによるアルコールからのメチルケトンの生産、ならびにメタノール酵母のアルコール酸化酵素によるメタノールからのホルムアルデヒドの生産などが、今後期待される研究として挙げられる。

*

C_1 微生物に関する第1回の国際シンポジウムが東京で開かれたのが 1974 年であり、その後、3年毎にモスクワ、シェフィールド、ミネアポリスとつづき、次回は 1986 年にオランダで開かれることになっている。メチロトロフィーの基礎から応用まで研究領域は拡がりつつあるが、特に SCP 以外の物質生産については、今後さらに飛躍するものと考えられる。なお、この分野の詳細、文献の所在については、生化学⁽¹⁾、物質生産^(2,3)に関する総説を参照されたい。また、基礎⁽⁴⁾、基礎と応用⁽⁵⁾についてまとめた単行本も出版されている。

文 献

- 1) 加藤暢夫：蛋白質核酸酵素，26，2157 (1981)。
- 2) 谷 吉樹：発酵と工業，41，1053 (1983)。
- 3) 谷 吉樹：有機合成化学協会誌，42，447 (1984)。
- 4) C. Anthony："The Biochemistry of Methylophilic", Academic Press, London, 1982。
- 5) C. T. Hou (ed.)："Methylophilic, Microbiology, Biochemistry, and Genetics", CRC Press, Florida, 1984。