

氏名(本籍)	かとう いさお 加藤 勲(愛知県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第1,959号
学位授与年月日	平成10年5月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	通気効果から見た振盪培養法の問題点と新規な振盪フラスコの開発
主査	筑波大学教授 工学博士 田中秀夫
副査	筑波大学教授 農学博士 中原忠篤
副査	筑波大学教授 工学博士 松村正利
副査	筑波大学教授 農学博士 前川孝昭

論文の内容の要旨

ペニシリン発酵やアミノ酸発酵の成例を見ても分かるように、エネルギー効率の高い有用な好気性微生物を自然環境から分離して培養条件を検討し、スケールアップを行うという一連の流れの中で、振盪フラスコは常に重要な役割を果たしてきたが、近年では自然環境から振盪培養を経て新規な有用菌株が分離される頻度は低下する傾向にあり、実験室で分離・育種された有用細胞の活性がスケールアップ後に再現されないなどの重大な問題に直面している。これらの問題に対して、応用微生物学者は有用細胞の分離源を特殊環境に求め、生物化学工学者はスケールアップのための中間段階を増設するなどの方策を採っているが、本研究では両研究分野における問題を総括して考察した上で、既存の振盪フラスコにおける性能上の欠如が共通の原因であるのではないかと考え、振盪フラスコの通気効果に関する定量的な検討を行った。

既存の振盪フラスコ(綿栓付き三角フラスコおよび肩付きフラスコ)の通気効果を酸素供給効果(β 値)と換気効果(K_{va}値)の両面から検討した結果、これらの振盪フラスコは換気効果が著しく低いという共通の問題が存在し、このために酸素呼吸の結果発生した炭酸ガスがフラスコ内に貯留してフラスコ内が嫌気的な環境に傾くということが明らかになった。したがって、換気効果は好気培養の経過や集積培養の結果にも影響を与え得る重要な培養環境因子であり、換気効果の高い通気攪拌型培養装置へのスケールアップや新規な好気性有用菌株のスクリーニングを目的として換気効果が低い既存の振盪フラスコを用いることは、培養経過の再現性や新菌株分離の可能性という点において大きな問題があるということが示唆された。

上記の問題点を解決するために、優れた通気効果を有する新規な振盪フラスコの開発を行った。このフラスコは、液流に大きな乱れを生じる箱型の容器に、ガスの透過抵抗が小さいメンブレンフィルターを装着したものである。新規な振盪フラスコ(以下、箱型フラスコと略称する)の通気効果を三角フラスコと同一操作条件(振盪速度、液量)で比較した結果、箱型フラスコでは β 値とK_{va}値のいずれも約10倍以上高い数値が示され、実際のパン酵母培養においても最終菌体濃度が約2倍に達した。これらの結果から、箱型フラスコは優れた通気効果を有するということが確かめられた。

箱型フラスコは実験室で使われる好気培養装置としての長所を数多く有していたので、次に、この箱型フラスコを数リットル程度の大量培養を可能とする好気培養装置に発展させることを試みた。作製した10L容箱型フラスコの通気効果を検討したところ、同一振盪条件(液量に関しては、全容量に対する液容量の比を合せた)で、小型の箱型フラスコと同等以上の酸素供給効果と換気効果が示された。これらの結果から、大量培養用箱型フラスコは、実験室で簡便かつ効率的に好気培養生産物を獲得するための培養装置として利用可能であることが示さ

れた。

最後に、振盪フラスコを含む各種好気培養装置の通気環境を酵素供給効果と換気効果の両面から総合的に検討した。K_vとβの相関関係に基づいて対酵素挙動が既知の菌株（パン酵母および *Zymomonas mobilis* IFO 13756）を用いたジャーフェメンターから振盪フラスコへのスケールダウン実験を行った結果、三角フラスコでは換気効果が乏しいためにジャーフェメンターと同じ培養経過を再現することは不可能であったが、箱型フラスコではジャーフェメンターとほぼ同じ培養経過が得られた。これらの結果から、一般的な好気培養系や揮発性阻害物質の生成を伴う好気培養系のスケールアップに際して、箱型振盪フラスコは基礎的なデータを収集するために有効な装置であることが明らかとなった。

以上の結果から、本研究で明らかにされた既存の振盪フラスコにおける通気効果の限界を認識した上で、優れた通気効果を有する箱型振盪フラスコを利用することにより、好気性微生物の探索や基礎・応用研究、培養プロセス開発に新たな進展がもたらされることが期待される。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、好気性微生物の探索や好気培養プロセス開発の基礎的な検討に広く利用されている既存の振盪フラスコが、換気効果の欠如により必ずしも好気的な培養装置とは言えないことをガス分圧の連続測定結果から指摘し、この問題を解決するために通気攪拌型培養装置に匹敵する優れた換気効果を有する新規な箱型振盪培養フラスコの開発を行い、その有効性を明らかにしたものである。

振盪フラスコの通気効果に関しては、これまで酵素供給に主眼をおいて研究が行われてきたが、好气的であると考えられてきた振盪フラスコ内の気相部ガス環境に疑問を投げ掛けて定量的な検討を行った研究は報告されておらず、本研究が初めてである。また、振盪フラスコ内の気相部ガス環境を評価する際に、細胞の呼吸活動を含めた生理活動の結果として発生するガスの「換気」という観点から検討を行ったことは本研究の大きな特色である。さらに、既存の振盪フラスコの好气的機能の限界を明らかにした上で、これを解決するために全く新しい振盪フラスコを開発したという点においても高い独創性が認められ、提示した問題に対して現実的な解決法を示したという点においても高く評価できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。