

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Watchara Kanchanarach
審査委員	主査 松下一信 ㊟
	副査 森信寛 ㊟
	副査 澤嘉弘 ㊟
	副査 阿座上弘行 ㊟
	副査 薬師寿治 ㊟
題目	Studies on Acetic acid Fermentation and Acetic acid Resistance Abilities in Thermotolerant <i>Acetobacter pasteurianus</i> Strains (耐熱性酢酸菌 <i>Acetobacter pasteurianus</i> の酢酸発酵能および酢酸耐性能に関する研究)
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>酢酸菌は、種々の糖質およびアルコールに対する強い酸化反応を有しており、「酸化発酵能」として利用されてきた。特に、<i>Acetobacter</i> および <i>Gluconacetobacter</i> 属酢酸菌は古くより酢酸発酵に使われている。この酢酸発酵は、細胞膜に結合して機能するアルコール脱水素酵素 (ADH) およびアルデヒド脱水素酵素によって行われるアルコールの呼吸鎖酸化反応である。また、生成される酢酸は強い細胞毒性を有するため、高い酢酸耐性能を有することも酢酸発酵を行う酢酸菌にとって必須である。加えて、発酵熱による温度上昇は酢酸生成能の低下を引き起こすため、酢酸発酵は一般に 30℃ 以下に冷却しながら行われている。そのため、特に高温条件下で酢酸発酵を効率的に行わせるには、「酢酸生成能」および「酢酸耐性能」に加えて、「耐熱性」が重要な要因となる。その意味で、タイから分離された耐熱性酢酸菌の有用性は高いと考えられる。</p> <p>第1章では、タイの果実や花から多くの耐熱性酢酸菌が分離され、それらの発酵能や耐熱性が調べられた。中でも、<i>Acetobacter pasteurianus</i> と同定された MSU10 株は、41℃ での生育能を有し、39℃ でも 1.5%酢酸あるいは 4%エタノール存在下で生育できる高い耐熱性を示すことが示された。そこで、この MSU10 株と、以前に分離されている耐熱性酢酸菌 <i>A. pasteurianus</i> SKU1108 株、さらに常温性 <i>A. pasteurianus</i> IFO3191 株および IFO3284 株との間で、耐熱性に関連して、酢酸発酵能および ADH の性質が比較された。</p> <p>MSU10 株と SKU1108 株は、37℃ で高い酢酸発酵能を示したが、IFO3191 株と IFO3284 株は同じ温度では発酵能が著しく低下した。そこで、酢酸発酵に重要な役割を果たす ADH を MSU10 株、SKU1108 株および IFO3191 株から得られた細胞膜から可溶化・精製して、それらの性質を比較した。結果、耐熱株の ADH は常温株のそれに比して、至適温度が 5℃ 高く、また温度安定性およびエタノールや酢酸に対してより高い安定性を示した。そこで、これらの ADH 遺伝子を解析し、そのアミノ酸配列を比較したところ、ADH の 3 種のサブユニット、サブユニット I, II, および III, それぞれに耐熱性に関連すると思われる若干のアミノ酸置換が見いだされた。</p> <p>第2章では、酢酸菌 <i>Acetobacter pasteurianus</i> IFO3283, SKU1108, および MSU10 を酢酸発酵条件下で培養し、その生育挙動を酢酸耐性能および菌膜多糖生成能との関係で調べた。これらの菌は、その発酵過程におけるエタノール酸化の対数期後期と静止期 (酢酸耐性期) に菌膜を生成すると思われる形態的变化と菌体糖含量の上昇を示した。</p>	

そこで、菌膜生成能を有する R 株とその能力のない S 株をそれぞれの株から分離し、それらの発酵能と酢酸の拡散取り込み能を調べた。結果、R 株は良好に酢酸発酵ができるのに対し、S 株はその能力を失っていた。また、S 株は R 株より高い酢酸の取り込み（拡散）能をもつことも示された。この結果は、酢酸発酵時に酢酸菌に生成される菌膜は酢酸の拡散に対する耐性能を高めることによって、これらの酢酸菌の酢酸発酵に寄与していることが示唆された。

このように、本研究では、耐熱性 *Acetobacter* 属酢酸菌の酢酸発酵能と耐熱性との関係とその反応で中心的な役割を果たす ADH の構造と性質、さらにこれらの酢酸菌が生産する菌膜多糖の役割を、生理学的、生化学的、さらに分子生物学的に解析し、ADH の構造的変異が耐熱性に大きく関係すること、さらに菌膜多糖が酢酸耐性に、ひいては耐熱性に関与することを明らかにする多くの新知見を提出した。

それ故、本研究は、基礎研究としても、また酢酸菌・酸化発酵の応用研究としても高く評価される成果をあげていると判断された。