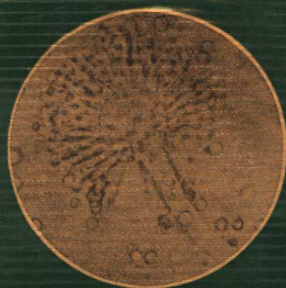


応用微生物学

相田

浩著

Top Level Authors The Best Editions The Highest Quality Books



応用微生物学

相田 浩 著

"Applied Microbiology" by Kō Aida

DOBUNSHOIN

応用微生物学

相 田 浩 著



東 京
同 文 書 院

^{あいだ 浩}
相田 浩

1945年 東京帝国大学農学部農芸化学科卒業
1953年 東京大学応用微生物研究所助教授
1971年 東京大学応用微生物研究所教授
1981年 東京大学応用微生物研究所所長
1982年 お茶の水女子大学家政学部教授

〈分担執筆した主な著書〉

相田浩著：要説応用微生物学，同文書院

植村定治郎・相田浩編：発酵と微生物Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ巻，朝倉書店

アミノ酸・核酸集談会編：アミノ酸発酵上下巻，共立出版

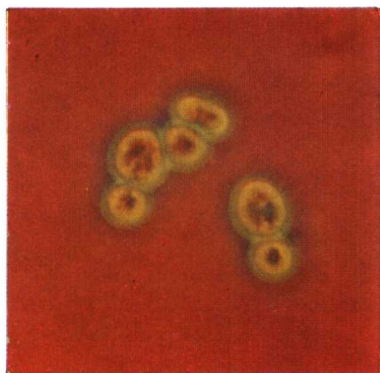
アミノ酸・核酸集談会編：核酸発酵，講談社サイエンティフィック

朝井勇宣監修，飯塚広編：「現代生物学大系 8 微生物」，中山書店

相田浩編著：微生物生理学，地球社

K.Yamada, S.Kinoshita, T.Tsunoda, K.Aida : The Microbial
Production of Amino Acids, Kodansha Ltd., Halsted Press.
(1972)

K.Ogata, S.Kinoshita, T.Tsunoda, K.Aida : Microbial Production
of Nucleic Acid-related Substances, Kodansha Ltd., Halsted
Press(1976)



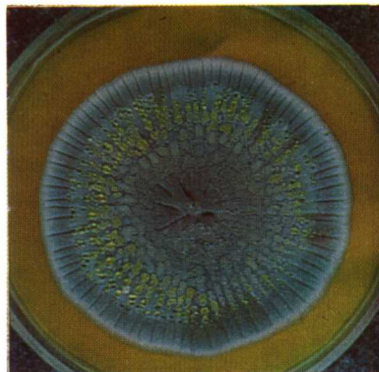
Saccharomyces cerevisiae
(干渉位相差顕微鏡)



Aspergillus niger
(巨大集落)



Serratia marcescens



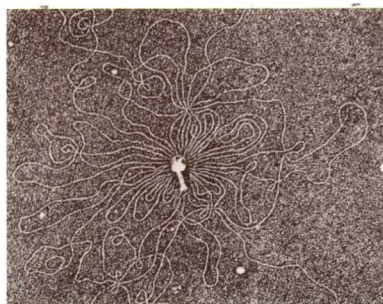
Penicillium chrysogenum
(巨大集落)



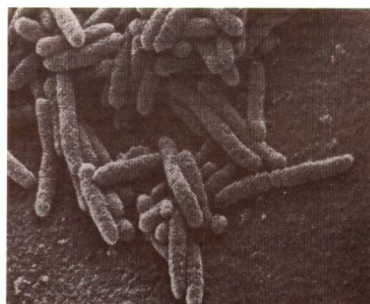
L-リジン塩酸塩 (偏光顕微鏡)



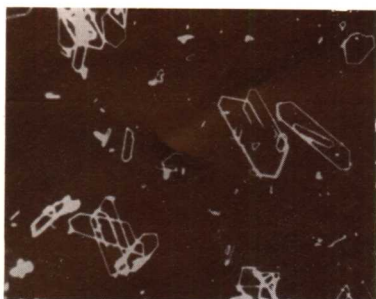
L-グルタミン酸 (偏光顕微鏡)



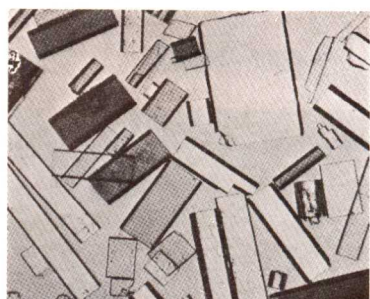
T₂ ファージ DNA の電子顕微鏡写真



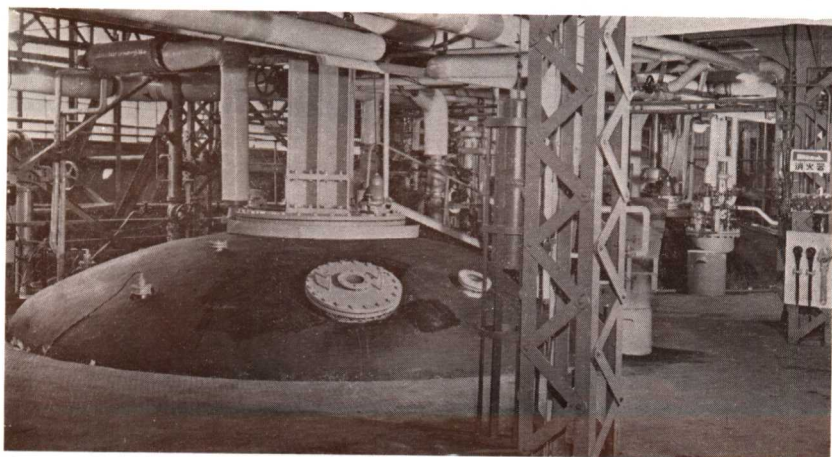
大腸菌の走査型電子顕微鏡写真



ムコール・レンニン



L-アスパラギナーゼ



アミノ酸・呈味性ヌクレオチド生産用発酵タンク

口絵カラー写真説明

Saccharomyces cerevisiae

清酒、ビール、ぶどう酒、アルコールなどの製造に使われる代表的有用酵母でパン酵母もこれにくまれる。(駒形和男原図)

Serratia marcescens

赤い色素を生産し、古く西洋ではパンにはえて「キリストの血」ともいわれた。和名を霊菌という。(駒形和男原図)

L-リジン塩酸塩

L-リジンは現在 *Corynebacterium glutamicum* のホモセリンまたはスレニオン+メチオン要求変異株によって生産されている。(木下祝郎原図)

Aspergillus niger

「くろかび」ともいわれる。こうじカビ属にはいるがクエン酸、グルコン酸、グルコースオキシダーゼなどの製造に用いられる。(駒形和男原図)

Penicillium chrysogenum

「あおかび」の一種で、世界中でペニシリンの生産に用いられている菌である。原株は米国ペオリアの一主婦が持参したメロンから分離された。(阿部重雄原図)

L-グルタミン酸

L-グルタミン酸ソーダは現在広く世界中で発酵法によって生産されている。アミノ酸発酵の最初の例である。(木下祝郎原図)

口絵黑白写真説明

T₂ファージDNAの電子顕微鏡写真

大腸菌T₂ファージの頭部を渗透圧ショックで破砕した後、流出したDNA。(cf. 40頁)

ムコール・レンニン

Mucor pusillus により生産されるチーズ製造用凝乳酵素、仔牛の第4胃からとられていたレンニンと同じように用いられる。(有馬啓原図, cf. 210頁)

大腸菌の走査型電子顕微鏡写真

一部の細胞は細胞分裂により無性生殖を行っているが、一部のものは接合により特有な糸状の連結を通してDNAを相手に移している。(cf. 85頁)

L-アスバラギナーゼ

Escherichia coli により生産される。急性白血病、悪性リンパ腫治療に効果がある。(協和発酵原図, cf. 213頁)

アミノ酸・呈味性ヌクレオチド生産用発酵

タンク

グルタミン酸、リジンなどのアミノ酸や5'-イノシン酸、5'-グアニル酸の製造中間体(イノシン、AICA-R)の発酵生産に用いられる。(味の素原図, cf. 161頁)

改 版 の 序

旧版の「応用微生物学」を上梓してから、もうかなりの年月が経過したが、幸い現在においても毎年かなり多くの読者に利用していただいていることは誠に有難いことである。しかし、最近の応用微生物学の著しい進歩を考えると、そろそろ大幅な内容の改訂を行わなければと何度も考えていたのであったが、公務多忙のまま今回までそれを果たすことができなかった。

ここ数年の研究動向をみると、最近になりまた微生物学分野の重要性が国内だけでなく国外においても大いに強調されてきているようである。すなわち今まで微生物については関心の薄かった方面においても、今後開拓すべき新しい分野として微生物の利用や酵素工学についての熱意が急速に高まってきている。それは一般的にはバイオテクノロジーとよばれているが、その中心になっているのが遺伝子操作技術である。それは今後、基礎生物学ならびに微生物の利用にとって、革命的な変化をもたらすことが期待されている。

今回の改版においては新しく「微生物遺伝生化学と遺伝子操作」という章を設けて、この方面の進歩をなるべく平易に紹介することにした。また、微生物の分類については、*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* の第8版の改訂に対応して大幅に書き直した。その他アミノ酸発酵、核酸発酵、生理活性物質、微生物食品などについても新しい進歩を紹介し、微生物酵素の利用においても固定化酵素・固定化微生物などを追加した。

しかし今回の改訂にあたっては頁数の増加は極力さけることにしたので、内容を簡略にしたところもある。実際の講義においては内容について適宜取捨選択するとともに、不足の点は補っていただくことを希望する。また専門的参考書も出来るだけ紹介したので、学生諸君の自修にも役立ててほしい。

最後に本書の出版についてご協力いただいた同文書院社長宇野正昭氏、編集部高橋正次氏に厚くお礼申し上げます。

昭和57年2月

東京大学応用微生物研究所 相 田 浩

序 文

10年位前に、朝井勇宜先生の御著書「食品微生物学」が同文書院から出版された。その後、これを「応用微生物学」として新しく書き改めるよう、同文書院から朝井先生に再三要請があった。私も何度か御相談にあずかったが、公務多忙のため中々お引受けすることができなかった。

考えてみると、最近10年間の応用微生物学の発展はまことにめざましいものがある。たとえば、グルタミン酸発酵を中心にするアミノ酸発酵の発見は昭和32年であったし、イノシン酸、グアニル酸などの呈味性ヌクレオチドの研究が初めて発表されたのは昭和35年であったろうか。そのあいだ、抗生物質の分野でもプラストサイジンSの実用化、カスガマイシンの発見などを始め著しい進歩があったし、応用酵素の面でも注目すべき業績が多数発表された。ステロイドの微生物変換についても従来わが国の単行本にはほとんど記載されていない。炭化水素の微生物による利用も、わが国で注目され始めたのは最近5年くらいのことである。また都市下水、産業廃水の微生物処理の研究がわれわれ応用微生物学者のあいだで活発になったのは数年前からである。

私自身、この最近発展してきた応用微生物学の新しい研究分野のいくつかに従事してきたので、その方面の専門書の必要性を感じていた。本書はページ数の関係上個々の分野を深く記述することができない点残念であるが、一応骨組だけは従来の成書にはみられない内容を持つものではないかと考えている。その意味で、応用微生物学の専門の研究者にも幾分かでも御参考になる点があれば幸いである。また、いろいろの点で従来の成書にない新しい考え方を取り入れてみたので、その点読者の御批判をお願いしたい。

本書の執筆にあたっては大石邦夫博士、山田雄三、内田欣哉、木内幹の諸氏の助力を得た。また貴重な写真をお借りしたり御援助いただいた米原弘、木下祝郎、阿部重雄、角田俊直、駒形和男の諸博士に厚く御礼申し上げます。

応用微生物学

目 次

第1章 応用微生物学の発展	1
I. 科学としての微生物学の誕生	1
II. 応用微生物学の発展	4
III. 分子生物学と遺伝子操作	8
IV. 微生物の利用	11
1. 醸造・発酵飲食品	11
2. 発酵生産物の利用	12
3. 酵素の利用	13
4. 微生物菌体の利用	13
5. 微生物の特殊な利用	14
第2章 微生物の種類と性状	15
I. 微生物の分類と命名	15
II. カビ (糸状菌, mold)	16
1. カビの形態	16
2. 真菌の分類	16
3. おもなカビ	18
III. 酵母 (yeast)	22
1. 酵母細胞の形態と構造	22
2. 酵母の増殖	23
3. 酵母の分類	24
4. おもな酵母	26
IV. 細菌 (bacteria)	29
1. 細菌の形態	29
2. 細菌の分類	31
3. おもな細菌	34
V. 放線菌 (actinomycetes)	38
IV. バクテリオファージ	39
1. ウイルスとファージ	39
2. 大腸菌 T ₂ ファージの構造	40
3. ファージの生活環	40
第3章 微生物の一般の生理	43
I. 微生物の増殖	43
1. 増殖の測定法	43
2. 増殖の世代時間	43
3. 増殖曲線	44
II. 増殖と環境要因	45
1. 酸素	45
2. 温度	46
3. 水素イオン濃度 (pH)	49
4. 水分と浸透圧	50
5. 光線・放射線	51
6. 他の微生物との相互作用	52

Ⅲ. 微生物の栄養	53
1. 栄養要求による微生物の分類	53
2. 一般微生物に必要な栄養素	56
3. 生育因子と微生物定量	56
第4章 微生物の代謝	59
Ⅰ. 呼吸と発酵	59
Ⅱ. 炭水化物の代謝	60
1. エムデン・マイヤーホフ・パルナスの経路	60
2. 6炭糖リン酸経路と5炭糖リン酸サイクル	62
3. トリカルボン酸サイクル	64
4. グリオキシル酸サイクル	64
5. 呼吸鎖と呼吸鎖リン酸化	66
Ⅲ. 糖代謝と発酵生産物の蓄積	66
Ⅳ. 脂質の代謝	68
Ⅴ. 窒素の代謝	68
1. 無機窒素の代謝	68
2. アミノ酸の生合成	68
第5章 微生物の酵素	73
Ⅰ. 酵素の命名法	73
Ⅱ. 酵素の一般的性質	74
1. 基質特異性	74
2. 最適水素イオン濃度	75
3. 最適温度	75
4. 補酵素	75
5. 賦活剤	76
6. 阻害剤	76
7. ミカエリス定数	76
Ⅲ. 酵素の種類と性質	77
1. 酸化還元酵素	78
2. 転移酵素	81
3. 加水分解酵素	81
4. リアーゼ	81
5. イソメラーゼ	82
6. リガーゼ	82
第6章 微生物遺伝生化学と遺伝子操作	84
Ⅰ. 細菌の遺伝的組換え	84
1. 形質転換	84
2. 形質導入	84
3. 接合	85
4. 細胞融合	85
Ⅱ. 遺伝情報の伝達	86
1. DNAの構造	86
2. 遺伝情報	88
3. タンパク質合成過程	88
Ⅲ. 代謝調節	89
1. 酵素合成誘導の制御機構	91
2. フィードバック抑制の機構	92
3. 酵素活性のフィードバック阻害	93
4. 異化物抑制	94
Ⅳ. 突然変異および突然変異株の利用	95
1. 微生物の突然変異	95
2. 変異源およびその作用	96

目 次

3. 突然変異株のとり方	99	4. 突然変異株の利用	100
V. 遺伝子操作	101		
第7章 醸造および発酵食品	107		
I. 酒 類	107		
1. 清酒	108	2. ビール	112
3. ブドウ酒	116	4. 蒸溜酒	118
II. 調 味 食 品	120		
1. しょうゆ	120	2. みそ	122
3. 食酢	124		
III. 乳 製 品	126		
1. 乳酸菌飲料	126	2. ヨーグルト	127
3. チーズ	127	4. バター	128
IV. その他の発酵食品	128		
1. パン	128	2. なっとう	130
3. ザウエルクラウト	130		
4. ピクルス	131	5. つけもの	131
V. 微生物食糧	132		
1. パン酵母	132	2. 亜硫酸パルプ廃液からの飼料酵母	133
3. クロレラ	133	4. 食用キノコ	134
5. 微生物タンパク	136		
第8章 応用微生物工業	139		
I. アルコール発酵	140		
1. アルコール発酵用酵母	140	2. アルコールの製造法	141
3. アルコール発酵の機作	143	4. アセトン・ブタノール発酵	144
5. 2,3-ブタンジオール発酵	144		
II. 有機酸発酵	145		
1. 酢酸発酵	145	2. 乳酸発酵	145
3. グルコン酸発酵	149	4. クエン酸発酵	149
5. イタコン酸発酵	150	6. アロイソクエン酸発酵	150
7. α -ケトグルタル酸発酵	151	8. コハク酸発酵	151
9. フマル酸発酵	151	10. リンゴ酸発酵	152
III. 酸化発酵	152		
1. 酸化発酵の種類と酸化の通則	152	2. 主要な酸化発酵	156
IV. アミノ酸発酵	156		
1. アミノ酸生産の現状	156	2. アミノ酸発酵の種類	158
3. 代謝制御発酵	160	4. グルタミン酸発酵	161
5. リジン発酵	164	6. イソロイシン発酵	165
7. L-アスパラギン酸の酵素合成	166	8. 酵素法によるL-リジンの製造	167
9. D-P-ヒドロキシフェニルグリシンの製造	168		

V. 核 酸 発 酵	169
1. 呈味性スクレオチドの製造	169
2. その他の核酸関連物質の製造	175
VI. 抗 生 物 質	177
1. 研究の歴史	177
2. 抗生物質研究法	179
3. 主要な抗生物質	181
4. 抗生物質の作用機序	186
VII. ビタミン, ホルモン, デキストラン, ジベレリンその他の医薬品	188
1. ビタミン	188
2. ホルモン	193
3. デキストラン	197
4. ジベレリン	199
5. D-エフェドリン	200
6. マルトールおよびエチルマルトール	201
VIII. 微生物による酵素製剤	202
1. 微生物酵素製剤の種類と用途	202
2. 微生物による酵素の生産	203
3. 主要な微生物酵素製剤	206
4. 固定化酵素と固定化微生物	213
IX. 石油および炭化水素の利用	215
1. 石油および炭化水素資化性菌	215
2. 炭化水素の酸化の機構	216
3. 石油からの微生物菌体生産	216
4. 石油からの発酵生産物	216
X. 微生物の特殊な利用	217
1. 都市下水および産業廃水の処理	217
XI. バクテリア・リーチング	221
第9章 食品の腐敗と保存法	223
I. 食品の腐敗	223
1. 食品の腐敗と微生物	223
2. 腐敗における生化学的变化	224
3. おもな食品の腐敗	227
II. 食 中 毒	228
III. 食品の保存法	230
1. 腐敗防止の原理	230
2. 加熱殺菌とかん詰・びん詰	233
3. 冷蔵・冷凍	234
4. 乾燥	235
5. 塩蔵	236
6. 糖蔵	236
7. 酢漬け	236
8. 燻煙	237
9. ガス貯蔵	237
10. 食品照射	237
11. 食品包装材	238
12. 防腐剤	239
第10章 微生物実験法	242
I. 必要な器具と装置	242
1. 培養用のガラス器具	242
2. 綿栓	243
3. 植菌用白金線	243
4. 乾熱滅菌器	243
5. オートクレーブ	244
6. コッホの蒸気滅菌器	244

目 次

7. 無菌箱…245	8. 恒温器…245	9. 振とう培養機…245	10. ジャーファーメンター…245
II. 培養基とその調整法……………	246		
1. コウジ汁およびコウジ汁寒天…246	2. 麦芽汁および麦芽汁寒天…247		
3. 肉汁および肉汁寒天…247	4. 牛乳およびリトマス牛乳…248	5. ペプトン水…248	6. 遠藤培地…248
7. ツァベック・ドックス氏液…249	8. ハイダック氏液…249	9. グルコース・アスパラギン培地…249	
III. 微生物の培養法……………	249		
IV. 微生物の純粋分離法……………	250		
1. 微生物の集殖培養…250	2. 微生物の純粋分離法…252		
V. 顕微鏡操作法……………	254		
1. 顕微鏡の種類…254	2. 光学顕微鏡の構造と取扱い法…256	3. 検鏡法…257	4. 顕微鏡標本の作製法…258
5. 染色法…258	6. 菌体計測法…260	7. 血球計による菌数測定法…261	8. メンブランフィルターによる菌数測定法…261
VI. 発 酵 実 験……………	262		
1. 酵母のアルコール発酵…262	2. 酢酸菌の酢酸発酵…263		
3. コウジ菌のアミラーゼ…263			
VII. 菌の保存入手法……………	265		
1. 菌株の保存法…265	2. 菌株の入手法…266		
索 引……………	269		
欧文名索引……………	274		
菌 名 索 引……………	278		

第1章 応用微生物学の発展

I. 科学としての微生物学の誕生

細菌や酵母はたいへん小さな生物、すなわち微生物 (microorganism) とよばれ、人間の肉眼で直接これを観察することはできない。しかし、この微小な生物が人類にどんな大きな働きをしているか、今日では誰でも知っている。だが、この微生物に関する学問が、実証科学として確立されたのは人類の歴史からみるとそれほど古いことではない。発酵、腐敗、伝染病などという現象はもちろん人類のはじめから知られていたが、その現象とその現象の主役である微生物との関係が明らかになるまでには、長い歴史の経過が必要であった。

たとえば酒は、日本でも西洋でも神話の中にみいだされる。古代エジプト人はブドウ酒やビールをオシリスの神から授かったものと信じていた。どんな原始民族でも、その民族固有の酒をもっている。乳を酸敗させて保存することは、旧約聖書の創世紀に記されている。

小麦粉をこね自然発酵させて焼くパンの製造も古くから行われ、ビールもエジプト第5王朝時代の記録がある。日本の清酒も、はじめは米を口でかんで槽に入れ、飯を水に浸して臼でつき、醗酵させてつくった。

このように、微生物が人類に利用されはじめたのは、発酵という現象を通じてであった。英語の発酵 (fermentation) という言葉は“沸き立つ”という意味から由来したもので、酵母のアルコール発酵で炭酸ガスが発生する現象をさしている。食酢の酢酸発酵、ヨーグルトの乳酸発酵の歴史も同様にかなり古い。とくに日本ではカビの利用が世界的な特徴で、これほどカビをじょうずに利用してきた民族はほかにいない。清酒、みそ、しょうゆの醸造もコウジカビ (*Aspergillus oryzae*) のおかげである。

しかし、これら微生物の利用は古代から自然発酵という形式で行われていた。そして、その主役である微生物については全然知られていなかったため、これらの発酵の管理はまったく経験的なもので、しばしば雑菌の汚染に苦しまねばなら

なかった。要するに最も大切なことは、発酵を行う微生物そのものの発見と、その作用の認識であった。



図1・1 レーウェンフック
(Anthony van Leeuwenhoek, 1632~1723)



図1・2 パスツール (Louis Pasteur, 1822~1895)

微生物をはじめて観察し記録したのは、オランダのレーウェンフック (Anthony van Leeuwenhoek, 1632~1723) というレンズ磨きであった。彼は、はじめて微生物をみることのできる拡大力をもった顕微鏡を組み立てた。最高の拡大率は270倍であったという。彼はこの顕微鏡で観察した微生物の記録を、Royal

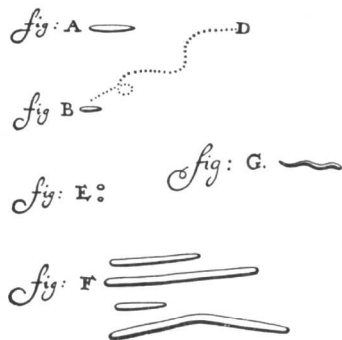


図1・3 レーウェンフックが、ヒトの口からみいだした種々の形のバクテリア (1683).
A, B: 桿菌, E: 球菌, F: 長桿菌, G: スピロヘータ.
B-D間の点線は細胞の運動の経路を示している。

Society of London に報告した。しかし、彼の興味は単に博物学的知識にとどまり、これら微小な生物を発酵、腐敗、伝染病などの現象と結びつけることはできなかった。

これら微生物の作用をはじめて認識し、微生物学が真に科学の一分野として確立するためには、約200年後、フランスの生んだ天才パスツール (Louis Pasteur, 1822~1895) の出現をまたねばならなかった。彼は、それまでの自然発生説 (微生物が自然に発生するという説) を実験的に否定し、微生物は微生物から生まれることを明らかにし、またビール、

ブドウ酒、乳酸、酪酸などの発酵が、それぞれの主役となる特殊な微生物の働きによることをみいだした。

当時、フランスの醸造界はブドウ酒の酸敗に苦しんでいた。彼は、これが酵母以外の微小な生物、すなわち細菌の二次的発酵に起因することをみだし、その防止法として発酵が終わったのち 60°C 前後に加熱すれば充分であることを発見した。これが現在でも広く行われている低温殺菌法で、彼の名を記念してパスツールゼーション (pasteurization) とよばれている。さらに彼は、南仏の養蚕業者の求めでカイコの微粒子病について研究し、その病原である微生物を発見し、かつその予防法を考案して養蚕業の破滅を救った。これはある病気が微生物に起因することを証明した最初の例である。

パスツールにつづいて、ドイツでは近代細菌学の父ともいうべきコッホ (Robert Koch, 1843~1910) が出現する。彼は、医学細菌学の分野で多くの研究を完成したが、いちばん大きな貢献は細菌学の研究技法の確立であろう。パスツールは、個々の微生物を純粋に分離することはできなかったが、コッホは、ゼラチンの固形培地をつくり細菌の分離培養法をはじめて考案した(1881)。同じころ(1878)発酵の分野ではデンマークのハンゼン (Hansen) がビール酵母の純粋培養に成功している。彼の方法はハンゼンの希釈法とよばれたが、のち、リントナー (Lindner) はさらに簡便な、小滴培養法を考案した。ハンゼンはビールの製造を安定させるため、単に有害細菌の汚染を防ぐだけでなく、酵母のなかにもいろいろ有害作用を起こすものがあるので、優良なビールをつくるには、ぜひ優良酵母を純粋に分離し、これを種菌にする必要を感じたのである。彼は、自分で考案した方法により純粋な優良酵母を育成し、自ら首都コペンハーゲンのカールスベルヒ醸造場で実地試験を行い、優良なビールを製造することに成功した。

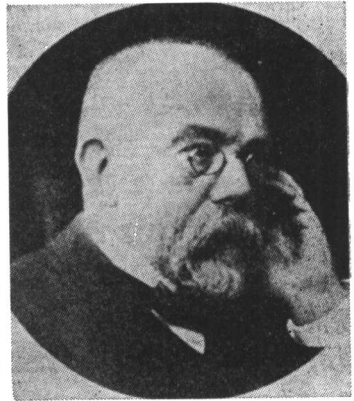


図 1・4 コッホ (Robert Koch, 1843~1910)

かくて発酵の分野でも、はじめて雑菌と共存する自然発酵法から雑菌を含まな

い純粋な菌を用いる純粋培養法への時代に移行しはじめたのである。

自然科学の一分野としての微生物学は、実にパスツール、コッホの時代にはじまり、彼等により発酵、腐敗、伝染病の原因としての微生物の作用が認識され、また純粋分離その他の実験技法が確立されたのである。それはせいぜい100年あまり以前のことにすぎない。微生物学がいかに若い学問であるか、また、その後の発展がいかに急速であったかに驚嘆せざるを得ない。

II. 応用微生物学の発展

実験科学としての自然科学の飛躍的發展は、第1には、明確な研究理念の確立、第2には、新しい実験技術の確立にかかっている。パスツール、コッホという微生物学の2人の巨人によって開かれた自然科学としての微生物学は、その後、飛躍的發展を遂げることになった。

しかし、これにつづく時期で、はじめに最も輝かしい成果を示したのは医学細菌学の分野であろう。細菌あるいはウイルスに起因する伝染病の病原体の発見とその対策が、人類に与えた福祉はひじょうに大きなものがあり、明治以来、わが国の北里柴三郎、志賀深、秦佐八郎などの諸博士の業績は世界的にも高く評価されている。

応用微生物学にとって、この時期はやがてきたべき黄金時代への準備期であったかもしれない。発酵と腐敗という、2つの大きな現象の解明がその当面の課題であった。

この当時の最も大きな成果は、1897年ブフナー (Buchner) の無細胞抽出液 (cell free extract) によるアルコール発酵であろう。パスツールは、アルコール発酵が“生きた”酵母によって行われることを主張し、アルコール発酵は“酸素のない呼吸”すなわち、生物の嫌氣的エネルギー獲得形式であることを明らかにした。しかしながら、ブフナーが酵母を磨砕し、生きた細胞を含まない抽出液を用いてアルコール発酵を行わせることに成功して以来、酵素化学的研究が著しく進展し、乳酸菌の乳酸発酵、筋肉の解糖作用の研究と併行して、いわゆるエムデン・マイヤーホフ・バルナスの型式 (Embden-Meyerhof-Parnas Scheme) の確立へとすすみ、いくつかのノーベル賞級の研究が発表され「発酵化学」の最盛