

微生物学の基礎と応用

東京大学農学部 別府輝彦

応用の学とされる農芸化学領域における微生物学研究について、その基礎的な微生物生理学に対する貢献を要約するのが筆者に課せられた役割である。わが国の微生物学における基礎研究のかかなり多くが応用と密接に関連した分野の研究者によってなされ、応用と基礎の両面が表裏一体を成していることは世界的にも特異であり、そのよってきたる経緯を考えてみることに意義があるだろうと思われる。

しかし、最近の技術革新以来速さを増している研究の流れのなかで泳ぐというよりも溺れかけているに近い筆者には、多彩な先人の業績を冷静に網羅して完璧なクロニクルを作り上げることなどできそうにない。そこで、筆者がこれまで折に触れて教えられることの多かった農芸化学分野のいくつかの優れた業績をきわめて恣意的に拾いながら、個人的な感想を記すことで責の一端を果たしたい。

I. 醗酵学の伝統

農芸化学の微生物学はそもそも醗酵学とよばれてきたが、この外国語に翻訳することのできない名前が含まれているきわめて複雑な内容について、最初に歴史を振りかえりながら考えてみたい。

1. 醗酵の研究

よく知られるように、近代微生物学は今から約 100 年前にパスツールによって創始されたが、彼は当時の醸造産業で用いられていた多様な微生物がそれぞれ固有の醗酵現象を示すことから、微生物のエネルギー代謝の型式としての醗酵の基礎概念にたどりついたのである。出発点で応用と密接なつながりを持っていた醗酵の研究は、その後ブフナーの酵母無細胞抽出液でのアルコール醗酵の観察を経て解糖系の EMP 経路を解明する過程で、現代の生化学を生み出す直接の母体の役割を果たした。

当初、農産物利用の一分野としての醸造技術研究から

出発した農芸化学の微生物学に醗酵の理論的研究に対する強い関心をもたらしたのは、大正 14 年に始まる高橋偵造、坂口謹一郎による *Rhizopus* 属カビのフマル酸醗酵についての研究だった。TCA 回路はおろか、解糖系さえ十分に解明されていなかった当時であって、たとえばエタノールから著量のフマル酸が蓄積されるという、はるか後年のグリオキシル酸回路を示唆する現象の観察がなされているのは印象的である。引き続いて坂口、朝井勇宣による *Aspergillus oryzae* のクエン酸醗酵の研究、朝井らによる酢酸醗酵の研究等が行われる一方、片桐英郎、北原覚雄は清酒醸造にかかわる乳酸菌に始まる乳酸醗酵の研究を行って乳酸ラセマーゼを発見し、醗酵生理の研究に酵素学的手法を取り入れた初期の優れた成果を示した。これらの研究には、微生物の物質代謝を生化学的に解明しようとする第二次大戦後の研究に直結する姿勢が既に鮮明にうかがわれる一方、それぞれの醗酵を行う微生物について多数の菌株を収集して総合的に比較整理する優れた分類学的研究を伴っていることは、今日のみで見て教訓的である。

この醗酵の研究の流れは、戦後のアミノ酸醗酵、核酸醗酵という輝かしい実用的成果のなかから新しい制御醗酵の概念を生み出し、さらに山田浩一らによる石油醗酵の研究、緒方浩一らによるメタノール資化性酵母の発見などにつながっている。その他にも、本江元吉らによるアセトン・ブタノール菌の研究、照井堯造によるクエン酸醗酵の理論的研究、酵母のイソクエン酸醗酵の研究からメチルクエン酸回路を発見した田淵武士ら、高尾彰一らのリンゴ酸醗酵酢酸菌のエタノール酸化酵素の補酵素としてピロールキノリンキノン (PQQ) を発見した飴山実らの最近の業績などに見られるように、醗酵の研究は戦後から現在にいたるまで微生物の物質代謝について数多くの成果を生み出してきている。

2. 酵素の研究

一方で、わが国の微生物利用技術のなかでタカジアスターゼやアミロ法に始まるアミラーゼ等の応用酵素の研究は古くから重要な位置を占めており、たとえば福本寿一郎らによる糊抜き用の細菌液化型アミラーゼの工業生産は昭和 14 年に開始されている。この伝統の上に、戦後の生化学の花形となった酵素学の分野では早い時期から福本、上田誠之助、岡崎 浩ら多数によるアミラーゼの研究、村尾沢夫によるペニシリンアミラーゼの発見等がなされた。とくに華やかな舞台となった昭和 26 年に始まる酵素化学シンポジウムでの多くの貢献は、筆者の記憶にまだ新しい。これらの活動を通じて、たとえば有馬 啓らによる芳香族化合物の微生物代謝研究から矢野圭司らによる酵素添加酵素のミカエリス複合体の結晶化にいたる成果や、山田秀明らによるアミノ酸代謝にかかわる B6 酵素の詳細な反応機構の解明など、わが国の酵素学分野におけるきわめて優れた業績が生まれている。基礎的な酵素研究は、戦前からの伝統をふまえて幸福なスタートを切り、今日世界的に評価されるに至っているわが国の酵素利用技術と密接に共役しながら進んで来ているといえよう。

3. 微生物生理の研究

農芸化学の誇るべき伝統の一つである鈴木梅太郎に始まるビタミンの研究は、醗酵の分野にも大きな影響を与えている。世界的に 1940 年代から急速に進み始めた微生物栄養に関する研究は多くの新しい微量生育因子の発見をもたらしたが、それらのなかでわが国の優れた成果として、田村学造による火落酸の発見を挙げることができる。

清酒腐造（火落ち）の研究は明治 39 年の高橋による真性火落菌の発見にさかのぼるが、田村はこの菌が生育に要求する清酒中の生育因子を追求単離してその化学構造を決定し、火落酸と命名した（昭和 31 年）。同時にメパロン酸として米国で発見されたこの物質は、ステロイドをはじめとする各種イソプレノイド生合成経路の鍵となる中間体として動植物微生物細胞の生理機能に不可欠な役割を果たしていることが明らかになった。この業績は、応用上の問題から出発する醗酵の研究が、基礎的な生化学に重要な貢献をなしえることを明確に示した点で、当時のわれわれに大きな自信を与えてくれた。

その後の微生物生理に関する業績は多方面にわたって要約するのが困難であるが、ここでは応用との関連で重要な一例として、グルタミン酸醗酵が菌のビオチン欠乏によって引き起こされる細胞膜透過能異常に起因していることを明らかにした一連の業績を挙げておきたい。

こうした歴史を振り返って見ると、わが国の農芸化学においては、諸外国では早い時期にはっきり分離した微生物の応用研究と基礎研究が、醗酵学の言葉を手がかりに一体となって保たれ続けてきたことが見てとれる。またその学問的内容は、物質代謝、酵素、細胞生理等に関する生化学から遺伝学、分類学にわたり、きわめて幅広い総合的な微生物学の立場を取っていることがわかる。このような特色は、われわれが今後の研究を進めるうえで有効であり、大事にしなければならない伝統であるといえると思うが、以下にはこの全般的な特色をいくつかの具体例についてもう少し考えてみたい。

II. 農芸化学の微生物学の特色

1. 基礎研究と応用研究のつながり

分子生物学の直接の申し子である組換え DNA 技術が実用的にも大きな成果をもたらすと期待されるようになってから、バイオテクノロジーにおける基礎研究の重要性が改めて強調されるようになったが、しばしば既存の知見や理論から出発することの多い基礎研究が真に応用の役に立つことは必ずしも容易ではないだろう。わが身を顧みると、グルタミン酸醗酵の発見前夜の鬱鬱気なかで、教科書の知見に基づいて蛋白合成の前駆体であるグルタミン酸が大量蓄積されることは考えにくいと議論していた学生時代が思い出される。しかし辛いことに、われわれはこのアミノ酸醗酵そのものについて、基礎研究が応用の役に立つことを示す優れた実例を見ることができる。

たとえば、木下祝郎、鶴高重三らがグルタミン酸要求性の乳酸菌を指標菌とする効率的なスクリーニング系を組み立てたことが彼らの成功の大きな理由といえるが、この方法自体が当時まだ新しかったバイオアッセイという基礎技術に基づいているといえるだろう。もちろん、その後のリジンやスレオニンの醗酵生産に最初は栄養要求性変異株、次いでアナログ耐性変異株が用いられて大きな成功を収めた際に、大腸菌のアミノ酸生合成系の制御機構についての基礎的知見が最大限に利用されているのは明らかである。この分野では、後にやはり鶴高が大腸菌のオルニチン生合成系の制御について優れた成果を挙げている。

ところで、基礎が応用の役に立つという考えとはちょうど逆に、応用研究から既成の基礎的知見の枠を破る手がかりが得られ、応用が基礎の役に立つという側面は、わかり切ったことであるが改めて強調する必要があるであろう。このような事例は火落酸をはじめとしてわれわれ身近に多数あるが、グルタミン酸醗酵においても細

胞膜の機能やこの菌固有の代謝制御系について、多くの基礎的知見が主として企業研究者によってもたらされているのはその良い例である。とくに、細胞膜の飽和/不飽和脂肪酸比が透過性等の機能に重要な役割を果たすという考えが、大腸菌を用いる基礎研究よりはるかに早くこの醗酵について唱えられていたことは示唆的である。

チーズに用いられる凝乳酵素キモシン（レンニン）の代用酵素として、*Mucor pusillus* からムコールレンニンを発見し、その研究を通じて酸性プロテアーゼの触媒機構に重要な知見を付け加えた有馬 啓らの業績は、別のもう一つの事例である。

実際にわれわれの身近で起こったこのような応用⇔基礎の相互作用を見るにつけても、この両者を総合的に取り扱ってきた特色ある伝統には、今後も十分の配慮が必要であるように思われる。

2. 新しい手法の導入

すでに述べた醗酵学の流れのなかで、われわれの先輩がきわめて早い時期から当時の先端的な対象であった物質代謝や酵素の研究に取り組んでおり、言ってみれば優れて新しもの好きであったことがわかる。醗酵という大事な、しかしやや重たい伝統があると述べた後で矛盾した不穏当な表現ではあるが、われわれには「学問の正統性」といえるようなものがなくて、それは実に有難いとししばし感じることがある。新しい研究手法の導入がきわめて機敏に行われてきたのは、そのことと無縁ではないであろう。

たとえば、戦後に一般的な利用が可能になった ^{14}C 等を用いるトレーサー実験法は、高橋 甫らの努力によって最も早く導入された。昭和 29 年に発表された野村真康、高橋らによるカビの有機酸代謝経路の $^{14}\text{CO}_2$ を用いる解析結果などは、そのレベルの高さを良く示している。また、微生物バイオアッセイ法も昭和 27 年ころから田村らを中心に始まったマイクロバイオアッセイ集談会の活動を通じて本格的に導入され、各方面に重要な貢献をしている。田村自身による火落酸の発見がその大きな成果であることはもちろんである。

とくに、研究手法にとどまらず新しい世界の学問的潮流の導入に大きな役割を果たしたのもとして、昭和 28 年に設立された東大応用微生物研究所の活動がある。当時の大学としては珍しく多方面の人材が参加して発足したこの研究所で、その名に反する純粋な基礎指向のもとに始まったいくつかの研究は、海外の新しい微生物学の動向に対応して筆者を含む多くの若い研究者に強いインパクトを与えた。たとえば、枯草菌のアミラーゼ合成についての研究所発足当時の野村らの研究は、当時よう

やく取り上げられ始めたばかりの蛋白合成の問題を独自の材料で解明しようとしたもので、その生理学的な広い視野とともにきわめて新鮮であった。また、同研究所に招聘された F. ライアンによる微生物遺伝学の初めての移入が、基礎と応用を問わずわが国の微生物学全般に及ぼした影響の大きさは特記されねばならない。

このような新しい動向に対する機敏な対応は、最近の組換え DNA 技術の導入についても遺憾なく発揮された。筆者らの研究室における仔ウシ・プロキモシン cDNA のクローン化はその初期の一例であるが、その後の農芸化学大会におけるこの技術を用いた演題の急増ぶりは目を見張るばかりである。既述の論点を再び繰り返せば、農芸化学における応用との深いつながりがここでの対応の重要な契機となっていることが指摘されねばならない。

研究の活力を示すこのような状況をみながらあえてつけ加えれば、今までわれわれは自身で技法を創造しながら研究を進めることが少なかったといえるかもしれない。そのなかで、水島昭二らが構造主義ともいえるような独自の態度で、それまで形態的観察にとどまっていた大腸菌外膜の単離技術を完成してグラム陰性細菌の表層構造についての基本的知見をもたらすとともに、蛋白分泌等に関するその後の彼等自身による優れた成果の出発点とした事例は目立っている。細胞構造に関しては、カビの溶菌酵素を発見して細胞壁構造の解明に利用した掘越弘毅の仕事も、別の事例としてつけ加えることができる。

応用に密着することによって生まれてくる、今まで基礎研究の材料とならなかった新しい対象を研究しようとするときに、自ら新しい研究手法を作り上げることがいっそう必要になるはずである。この意味で、最近の企業研究者によるグルタミン酸醗酵菌の宿主・ベクター系の開発は高く評価される。

3. 化学的手法

かつてしばしば、農芸化学の基本的的方法論は化学であるという大先生の御言葉を、生物学をやっているつもりで筆者はいささかの不満を隠しながら謹聴した覚えがある。また時に自分から、「農芸化学ではモノを取らない」とほめてもらえない」と冗談めかしていったこともある。しかし、ややもすると現象の観察のなかで無限に拡散しようとする生理学研究にとって、このような化学の側からの重しが常に存在することはかえって大変好ましいことだと本心では思っている。農芸化学分野では、化学と微生物学の双方から新しい抗生物質や各種の生理活性物質を探索する試みが不断に続けられており、これらの物質はその作用機構の研究を通じて微生物のみならず

普遍的な細胞生理に関する全く新しい知見を得る機会を提供してくれている。

田村学造らが抗ウイルス抗生物質として発見、構造決定したツニカマイシンはその好例といえる。この化合物は、UDP グルコサミンを模倣したその構造に基づいてグルコサミンを含有する各種の複合多糖の生合成に対してきわめて特異的な阻害効果を示すことが明らかにされ、折から急速に発展しつつあった動物細胞や酵母の生化学のなかで糖蛋白の糖部分の機能を調べる目的で用いられ一挙に世界に普及した。一方で、枯草菌のツニカマイシン耐性変異株が高いアマラーゼ生産性を示すことから、丸尾文治らが行った系統的な枯草菌アマラーゼ生産性の育種に重要な貢献をした。

そのほかにも、ポリオキシンのカビ細胞壁キチン生合成阻害(鈴木三郎ら)、セルレニンの脂肪酸合成酵素阻害(大村 智ら)、グラム陰性細菌外膜の生合成阻害剤としてのグロボマイシン(犬飼正俊)等の研究は、新しい抗生物質が生化学上の重要な基礎的知見をもたらした例である。また梅沢浜夫らとならんで村尾沢夫によって展開された多様な酵素阻害剤の発見は、枯草菌の孢子形成や担子菌の子実体形成へのプロテアーゼの関与という微生物生理学的に重要な事実を明らかにした。遠藤 章らがコレステロール生合成の阻害剤として発見したコンバクチンが、医薬としての開発とともに生体内コレステロール代謝についての新しい知見をもたらしたのもその一例である。

これらとは別に、福井作蔵らによる異担子菌酵母 *Rhodospidium* の接合ホルモンの研究、筆者らによる放線菌の孢子形成、二次代謝誘導物質としての A- および B-ファクターの研究等は、細胞の高次機能の調節機構を分子レベルで明らかにする手がかりとなることが予期される。

特定の細胞機能に対して高い選択性を持った作用物質を用いることによってその機構について分子レベルでの知見が得られることは、ペニシリン結合性蛋白の面から細菌ペプチドグリカン生合成の機構を解明した松橋通生らの成果がよく示している。生物学の今日の大きな課題の一つである動物細胞の機能、増殖など新しい分野に今後われわれが分け入って行く時に、新しい作用物質の化学から出発する立場はますます重要になると思われる。

4. 微生物の多様性

最後に、農芸化学領域の微生物学の最大の特色である、いわゆるスクリーニングの手法について述べたい。

かつて他分野の理解を得にくかった世界的に見ても特色あるこの手法をめぐる議論はほほ落ち着いたように思

われるが、その要点を繰り返せば、①結果の優劣で判定される方法論としてスクリーニングは優れている。②ランダムスクリーニングといわれて非論理性を問われたこの手法には生物の種の多様性という最も重要な論理的裏付けがある、という2点に要約されよう。生物の持つ基本的属性のなかで最も重要なものの一つが種の多様性であり、未発見の膨大な種が微生物界に残されているという事実がスクリーニングの成功を支えている。このことを明瞭に示している一例として掘越弘毅による好アルカリ性微生物の探索研究がある。pH 10 という簡便な、しかし今までほとんど試みられていなかった培養条件を設定したことによって、多種多様な種を含む「好アルカリの世界」が開かれ、そこから数多くの実用酵素が見出された。今までに応用の立場から広汎なスクリーニングが行われた結果、現在われわれが相手とする微生物の種類は他の分野に見られない広がりを持つようになっており、そのなかにはたとえば養田泰治らによる好熱性水素細菌や今井和民らによる鉄酸化細菌などの無機栄養性菌まで包括されるようになってきている。スクリーニングによっていかに大きな実用的成果が挙げられたかをここで今さら述べる必要はないが、こうして見出される新しい微生物の機能や現象の一つ一つが、基礎的な生物学にとって新しい課題を供給しているのである。優れた生物学研究に見られる「独創性」のかなりの部分が対象とする生物現象の新しさに依存しているように思われるが、その意味でスクリーニングが応用のみならず基礎研究に果たす役割はきわめて大きいといえよう。

ところで、自然界に存在する微生物種の多様性に基礎を置いているスクリーニングにとって、微生物分類学が重要であることも忘れてはならない。かつて醸造学が成立した当初からわれわれの先輩による多くの優れた分類学的研究があるが、その伝統の上に長谷川武治らによる菌株保存諸機関の大きな貢献がなされていることも特記したい。最近のプラスミド遺伝学の抬頭とともに、自然界の微生物種が示す遺伝的流動性が認識されるようになってきているが、かつて植村定治郎が提唱した微生物生態学も新しい視点で光があてられるだろう。ナイロンオリゴマー分解酵素系プラスミドとその遺伝子について行われた岡田弘輔らの研究によって示された、遺伝子進化に関する重要な成果はその先例の一つとみることもできる。

III. おわりに

以上、きわめて個人的な立場から主として過去の事例について述べてきたが、これからの展望については本当のところわからないとしかいいようがない。しかしあえ

てここまでの個人的見方を延長して次の諸点を挙げることでこの一文を終えることとしたい。

1) 微生物の基礎的研究はこれまで大腸菌を中心にきわめて少数の種について進められてきた。大腸菌を一步出はざれるとまだまだ面白い問題は山積しており、それらのなかには普遍的な生物の原理を解明する手がかりも数多いように思われる。幸い応用に密着し、スクリーニングによって常にそのような問題を供給されているわれわれは、多様な微生物種についての基礎研究を積極的に推進すべきではないか。

2) 微生物はいわゆるバイオテクノロジーのなかで「生きている道具」としてこれからますます利用されるようになるだろう。基礎と応用の境界がなくなりつつある現在の生物学の現状のなかで、真の応用を目指すことはわれわれの今までの特色を生かす上で重要だろう。

3) 微生物とは「微生物学的手法で取り扱わねばならない生物である」としか定義しようがない。そうならば動植物細胞もすべて微生物と見なすことができるし、そ

れらをわれわれの研究対象として積極的に取り入れることができるだろう。ただその時に、われわれが今までに持っている特徴ある立場なり方法を大事にしたい。

4) そのような特徴ある手法の一つとして、スクリーニングは今後も重要な研究手法であり続けるだろう。一方、しばしばスクリーニングと対立的な手法とみなされる組換え DNA 技術は、むしろ相互補完的な手法として一層活用されるようになるだろう。

5) 最近の技術的進歩は、生物学の分野で研究者が頭に描きやりたいと思う研究をかなりの程度まで実際にやれるような状況を作り出している。そのような状況のなかで、応用と基礎、化学と生物学が包括されている農芸化学は、微生物学にとって大変都合のよい場であるように思われる。

以上、筆者の未熟のために多くの優れた業績のなかで落したものが多く、また誤解、誤断も多いことを恐れている。謹んでお詫び申し上げる次第である。