



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Study on the Production of a New Tylosin
Derivative, Acetyl-Isovaleryl Tylosin (AIV) by
Microbial Transformation

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 黄, 国偉 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2576

氏 名 (本 國 籍)	黄 国 偉 (中華人民共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 235 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 9 月 13 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学 位 論 文 題 目	Study on the Production of a New Tylosin Derivative, Acetyl-Isovaleryl Tylosin (AIV) by Microbial Transformation (微生物変換法による新規タイロシン誘導體アセチ ルイソバレリルタイロシン(AIV)生産に関する研究)
審 査 委 員 会	主査 静岡大学 教授 岡 部 満 康 副査 静岡大学 教授 朴 龍 洙 副査 岐阜大学 教授 河 合 啓 一 副査 信州大学 教授 柴 井 博四郎

論 文 の 内 容 の 要 旨

アセチルイソバレリルタイロシン(AIV)はタイロシンを基質として、放線菌 *S. thermotolerans* による微生物変換で作られた16員環マクロライド抗生物質で、タイロシン耐性菌に有効であることが Okamoto らによって実証された。本研究では、*S. thermotolerans* によるタイロシンからAIVへの微生物変換反応システムの確立をおこない、その工業的実用性を200(L)バイオリアクターで確認した。そして、更なるAIV生産性の向上を図るためにそのAIV生産プロセスの数学的な動力学モデルを誘導し、モデルから計算した理論値と実測値が一致することを確認したうえで、動力学モデルを用いてコンピューターシミュレーションによるAIV生産プロセスの更なる最適化を試みたものである。

実験では先ず、タイロシンから新規抗生物質、3-アセチル-4"-イソバレリルタイロシン(AIV)への微生物変換における培地成分をフラスコで最適化した。続いて、その最適化された培地を用いてタイロシンの供給速度、pH、溶存酸素濃度及び変換温度を3-l ジャーファーメンターで最適化した。菌体増殖期の後、pH7.0、タイロシンの流加速度を200mg/l/hrに維持したとき、9.3 g/lの3-アセチル-4"-イソバレリルタイロシンが得られた。フラスコ及びジャーファーメンターで得られたデータを基にして、200 lファ

ーメンターにスケールアップしたところ、13.8g/l の AIV が 83%の収率で得られた。

次に、新規抗生物質アセチル-イソバレリルタイロシン(AIV)生産における基質(タイロシン)の最適な基質流加速度プロファイルについて検討した。最適化の第1段階として、タイロシンを基質とする AIV 生産に関する動力学モデルを提案し、実験データに適合するようにモデルに含まれるパラメタを、スプラン関数を用いて予めスムーズ化した変換反応における生データから最小二乗法を用いて推定した。

最後に、ここで提案した動力学モデルを用いて一回のフェッドバッチあたりの AIV 生産量を最大とするタイロシンの流加速度を改良コンプレックス法を用いて探索した。この探索で得られた、最適化された流加速度プロファイルはタイロシンの濃度が菌体の増殖を抑制しない範囲でタイロシンの流加速度を可能な限り高くすることであった。この条件で AIV を生産した場合、従来経験的に行われた一定流速での培養に比較して 30%ほど AIV の生産量が増加することをシミュレーションにより明らかにした。この結果は 30l ジャーファーマンターを用いたフェッドバッチ培養で実証することができた。

一般に物質の商業生産においては常に生産コストを最小にすることが要求されている。この要求に答えるためには菌株の改良、培地の最適化、プロセスの改善等を実験的に進めていく必要があるが、それだけでは経済的にも時間的にも制約があり、十分な成果が得られない場合が多い。本研究ではこうした問題に対する解決法の一つとしてシステム工学的な最適化法を提案している。本論文において提案された方法は、特に高度な数学的な技能を必要とせず、一般の生産現場でも十分に応用することが可能であり、実用性の面で十分価値あるものと思われる。

審 査 結 果 の 要 旨

アセチルイソバレリルタイロシン(AIV)はタイロシンを基質として、放線菌 *S. thermotolerans* による微生物変換で作られた16員環マクロライド抗生物質で、タイロシン耐性菌に有効であることが Okamotoらによって実証された。本研究では、*S. thermotolerans*によるタイロシンからAIVへの微生物変換反応システムの確立をおこない、その工業的実用性を200(L)バイオリアクターで確認した。

そして、更なるAIV生産性の向上を図るためにそのAIV生産プロセスの数学的な動力学モデルを誘導し、モデルから計算した理論値と実測値が一致することを確認したうえで、動力学モデルを用いてコンピューターシミュレーションによるAIV生産プロセスの更なる最適化を試みたものである。

実験ではまず、タイロシンから新規抗生物質、3-アセチル-4"-イソバレリルタイロシン(AIV)への微生物変換における培地成分をフラスコで最適化した。続いて、その最適化された培地を用いてタイロシンの供給速度、pH、溶存酸素濃度及び変換温度を 3-l ジャーファーマンターで最適化した。菌体増殖期の後、pH7.0、タイロシンの流加速度を 200mg/l/hr に維持したとき、9.3 g/l の 3-アセチル-4"-イソバレリルタ

イロシンが得られた。フラスコ及びジャーフェンターで得られたデータを基にして、200 lフェンターにスケールアップしたところ、13.8g/lのAIVが83%の収率で得られた。

次に、新規抗生物質アセチル-イソバレリルタイロシン(AIV)生産における基質(タイロシン)の最適な基質流加速度プロファイルについて検討した。最適化の第1段階として、タイロシンを基質とするAIV生産に関する動力学モデルを提案し、実験データに適合するようにモデルに含まれるパラメタを、スプラン関数を用いて予めスムース化した変換反応における生データから最小二乗法を用いて推定した。

次いで、ここで提案した動力学モデルを用いて一回のフェッドバッチあたりのAIV生産量を最大とするタイロシンの流加速度を改良コンプレックス法を用いて探索した。この探索で得られた、最適化された流加速度プロファイルはタイロシンの濃度が菌体の増殖を抑制しない範囲でタイロシンの流加速度を可能な限り高くすることであった。この条件でAIVを生産した場合、従来経験的に行われた一定流速での培養に比較して30%ほどAIVの生産量が増加することをシミュレーションにより明らかにした。この結果は30lジャーフェンターを用いたフェッドバッチ培養で実証することができた。

一般に物質の商業生産においては常に生産コストを最小にすることが要求されている。この要求に答えるためには菌株の改良、培地の最適化、プロセスの改善等を実験的に進めていく必要があるが、それだけでは経済的にも時間的にも制約があり、十分な成果が得られない場合が多い。本研究ではこうした問題に対する解決法の一つとしてシステム工学的な最適化法を提案している。本論文において提案された方法は、特に高度な数学的な技能を必要とせず、一般の生産現場でも十分に応用することが可能であり、実用性の面で十分価値あるものと思われる。

基礎となる学術論文

- 1) Huang, G. W., Okamoto, R., Hikita, A., Park, Y. S., and Okabe, M.: Optimization of conditions for conversion of tylosin to a novel antibiotic, acetyl-isovaleryl tylosin (AIV), by *Streptomyces thermotolerans* and scale-up to 200-liter pilot-scale fermentor. J. Ferment. Bioeng., 84, 77-81 (1997).
- 2) Huang, G. W., Okabe, M., Kahar, P., Tsunekawa, H., and Park, Y. S.: Optimization of tylosin feeding rate profile in production of acetyl-isovaleryl tylosin (AIV) from tylosin by *Streptomyces thermotolerans* YN554. J. Biosci. Bioeng., 91, 504-508 (2001).