

バイオテクノロジー標準化支援協会ジャーナル No.138

SABS Journal No. 138

発行日：2023年2月18日

URL：<http://sabsnpo.org>

相変わらず寒さが続く今日この頃ですが、それでも晴れると時々春めいた風が吹きます。いわゆる陽だまりでは冷たい北風が収まると気持ちが和みます。都心の筆者宅でもささやかな庭に梅の老樹があるのですが近所の家々に囲まれているせいかつぼみのままでしたが今朝数輪咲いているのを見つけました。とはいえ、数日前には霜柱やらバケツの氷も2度ほど見ました。寒さの折、皆様いかがお過ごしでしょうか？

SABSジャーナルは、当協会を設立した東京都立大学名誉教授奥山典生先生が2015年ご逝去直前まで執筆され、毎回様々な分野にわたり溢れる蘊蓄を披露されて居られました。その後、奥山先生のご遺志を継いだ我々は当協会をさらに発展させて行くため、本ジャーナルを定期的に発行し続けています。また定例会もこれ迄通り継続して毎月開催し、専門家の方々に話題を提供して頂き、自由な討論を通じて勉強と親睦を深めています。コロナ禍のため2020年3月以来何度も定例会が中止となりましたが昨年来やっと定期的に分かるようになったのは有り難いことです。

前号(No137)では「どんどん感染者数が増えて大きな第8波となりました」と書いたのですが、その後、あまり大きな山にはならず、結局第7波より小さいピークを乗り越えて下降し始め、現在は明らかに収束に向かっています。[\(https://www3.nhk.or.jp/news/special/coronavirus/data-all/\)](https://www3.nhk.or.jp/news/special/coronavirus/data-all/)。昨年末あたりから巷の人出はどんどん増え始めました。正月休みで人の移動が激しくなるとまた新しい波が立ちあがるとの専門家のコメントがありましたが、幸い当たらなかったようです。但し上記のNHKサイトを見ると、死者数は第7波より増えています。テレビ報道では、老人ホームのようなところで集団生活をして居る持病があったり frail な人たちのところで発生している所謂クラスター(集団感染)が死亡者数を増やしているとも言われます。筆者の様な後期高齢者は気を付けたいところです。年が明け2023年となった最初の集まりは、前回の1月28日(土)第113回定例会でした。例年通り新年会を兼ねた懇話会とし、筆者(檜山)が後述のように「乳酸菌」というテーマで話題提供しました。

さて東京のコロナ感染状況は必ずしも楽観できません。東京の'第8波'の立ち上がり方は第7波に比べるとかなり緩く見えたのですが、遂にピークは第7波と同じになりました。とはいえ上記のNHKサイトをみると少しずつ下がって来た感がありますがどうでしょうか。これまでコロナ禍では息をひそめていたインフルエンザも増え始めました。今政府はコロナ(Covid-19)を第2類感染症から第5類にしてマスクなしの世の中にすることを模索しています。経済を動かすとか諸外国の情勢に合わせるとか言われていますが、マスクで聞く限り現場で治療に当たっている医療関係者たちには圧倒的に第5類変更反対の人が多いようです。現在、厚労省のホームページでは「3月13日からこれまで屋外では原則不要、屋内では原則着用としていましたが新型コロナウイルス感染症対策マスク着用は個人の判断が基本となります」とあります：

<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/001056902.pdf>

前回、それまで徹底的隔離政策で見かけ上“ゼロコロナ”のように見えた中国が昨年末に一転、検査をやめる、マスクもなし、自由に外出せよ、などと極端な政策に転換したことを書きました。その後、感染者数は九億人を越したとか、もともと脆弱な医療体制と薬品不足などから実際の死者数は膨大な数字になるのではないかと言う中国で医療に従事している日本人医師の報告もあります。

<https://news.yahoo.co.jp/articles/10089d28c4f8fd875f607be2f4feb7d0390c9e87?page=1>

また彼の地では「春節」で膨大な人数の人々が検査もマスクもワクチン接種もなく動きました。観光で外国に出たい人達も大変な数で、諸外国と同じく日本も中国人観光客に対する入国制限を行っていますが、他国には影響を与えない事を祈るばかりです。

前述のように前定例会の話題は、このジャーナルを2015年以来執筆させて頂いている檜山が提供しました。乳酸菌の話題は単に腸内環境を整える胃腸薬としてだけでなく、免疫を強くさせるなどこの数十年大きな話題とバイオ産業の立役者の一つとなっています。筆者は、「乳酸菌のラセミ化機構」という論文で学位を頂きました。50年以上も昔の話です。大学院の研究室(東大応用微生物研究所発酵菌学部門)で北原覚雄教授と水島昭二助手、福井作蔵助教授の指導のもと5年余りの間、学会誌に発表した6編ほどの論文は全て乳酸菌の代謝と酵素の精製に関係しています。乳酸は不斉炭素に-OH、-COOH、-CH₃と-Hが共有結合している光学活性物質です。乳酸は動物植物に普遍的に存在するエネルギー獲得系の解糖系で無酸素状態での最終産物ですが、ほとんどはL-型です。ところが乳酸菌の最終産物にはL型だけでなくD型もあり、更にはDL同量を生成する菌がいることは古くから知られていました。北原先生は京大助教授のとき、L乳酸又はD乳酸をこのDL乳酸(ラセミ型)に変換する酵素の存在を発表しました。乾燥菌体もこの活性を示すことから酵素であるとし、ラセミアーゼと命名したわけです。Racemiaseと言う名は欧米では違和感があったらしく現在この異性化酵素はRacemaseと言う名になり、その後広くアミノ酸などで発見されていますが、このラセミアーゼはラセマーゼの嚆矢として今日でも知られています。昭和11年(1936年)のことです。その後北原先生は戦後間もない1953年に当時東大の附置研究所として発足した応用微生物研究所(その後1993年に分子細胞生物学研究所、更に2018年には定量生命科学研究所と改称)に京大から福井作蔵先生と大林晃氏を連れて第1研究部(発酵菌学)の教授として赴任しました。そこで乾燥菌体から抽出したCell-free標品を研究し酵素としての性格を確立しました。1962年に筆者が院生として研究室に入ったとき大林さんは既に鹿児島大の教授に転任されていました(後にタカラバイオ研究所の初代所長として活躍されました)。水島さんは筆者が研究室に入った時まだ30歳になったばかりで「解糖系の定量的解析」という大きなテーマでホモ乳酸発酵(即ち乳酸菌の解糖系)の酵素10種を片端から全部精製してそれぞれの量(活性としての)とミカエリス定数(Km)やpH特性など活性に影響する定数を決定する仕事を精力的にやっていました。解糖系の最後の段階が乳酸脱水素酵素(Lactate dehydrogenase:LDH)ですが、これが筆者のテーマとして与えられました。水島さんが使っていた菌は*Lactobacillus plantarum*で最終産物はDL乳酸、即ちラセミ型乳酸です。北原先生たちが1936年に最初にラセミアーゼを見つけた

菌株(No11)です。先ず光学活性型(L)の乳酸が先ず生成され、次にラセミアーゼによりラセミ化が起こるとというのが当時の考え方でした。菌株が作るL-乳酸に第11番目酵素のラセミアーゼが働いてDL乳酸を最終的に生成すると考えられていました。そこで筆者はL-乳酸脱水素酵素(L-Lactate Dehydrogenase: L-LDH)を精製する事に掛かりました。先ず教わったのは酵素活性の測定法です。分光光度計で吸光度の時間変化から反応速度を出しそれを酵素活性として測る方法でした。当時はメーターの針の動きをストップウォッチ片手に読み取りメモしてから方眼紙にプロットしました。乳酸脱水素反応は乳酸から水素を取って(脱水素反応)ピルビン酸にするという反応ですが、解糖系では逆にピルビン酸を補酵素のNADH(当時はDPNHと呼んだ)で還元する“逆反応”が遥かに速く動いているのです。そこでこの逆反応を光度計のセル(キュベット)内でやらせ、反応速度を吸光度の時間変化から測定します。NADHは波長340nm(当時はm μ と呼んだ)に吸収スペクトルのピークがあり、酸化(脱水素)されると吸収の無いNADに酸化されるのでこの波長における吸光度減少の時間変化の速さを測ったわけです。タンパク質濃度は280nmの吸光度を測りました。そして酵素タンパク質の分画精製は、硫酸分画、DEAEセルロースを使ったカラムクロマト(フラクションコレクタなるものを初めて使いました)、ハイドロキシアパタイト(当時はリン酸カルシウムゲルと言っていた)による希薄溶液からタンパク質の濃縮、そして透析なども教わりました。今考えると、これらは全て1962年当時の最新技術でした。結局、L-乳酸脱水素酵素(L-LDH)の精製は出来ました。ところが更にD-LDHまで見つかってしまい、結論としてラセミアーゼはD-LDHとL-LDHという二つの酵素の今でいう‘コラボ’だということになってしまいました。これらの作業は殆ど1962年内に終わりました。その後の3年はいろいろなテーマを自分で探していましたが結局5年目に本物のラセミアーゼを何とか見つけて学位論文にしようと本気で取り組み、幸いにも北原先生達が酒母から分離命名した*Lactobacillus sake*という乳酸菌から初めてラセミアーゼを純化精製できました。この論文(Hiyama T, Fukui S., Kitahara K (1968) J Biochem (Tokyo) 64: 99-107)は今でも引用されています。この仕事は北原先生が1966年3月に東大を定年退官され東京農大に移られた後にやりました。当時冷房のない実験室で夏の暑いなか低温室に組み立てた巨大なDEAEカラムから非常に薄まって出て来る大量の溶離液を何本もの500 mlフラスコにとり分ける人力フラクションコレクタになって時計を見ながら低温室に毎日何度も出たり入ったりする生活を数か月続け試験錯誤しながらやっと1週間で酵素標品がとれる方法になんとか辿りつきました。この酵素は1週間しか活性が持たない弱い不安定なものと分かり、その後は1週間かけて培養、精製し、特性を次の1週間で調べることを何度も繰り返し得られた研究成果をまとめ世田谷の農大に行って先生に報告したのを覚えています。

北原覚雄先生(1906-1977)は確か京都帝大に農林化学科が出来たときの最初の学生の一人と聞いています。卒業後当時東京帝大農芸化学科出身で英国に留学して帰国した片桐英郎教授の研究室で乳酸菌の研究を始め、前述のようにラセミアーゼの発見に至ります。京都の漬物から非常に多種の乳酸菌を採取し徹底的に同定した膨大なコレクションがあり、東大に赴任されたときに持ってこられた膨大な数の試験管が低温室にありました。菌株は時々植え継ぐ必要があるので、筆者が研究室に入った当時2人ほど植え継ぎ専任の技官が居たのを覚えています。アメリカには

ATCC (American Type Culture Collection) という菌株保存機関がありますが、かなりの数の乳酸菌がこの北原コレクションから送られていました。当時乳酸菌のコレクションとしては世界最大だったと聞いていました。今回インターネットで調べると先生の名前の項が沢山出てきますが

Oenococcus kitaharae という乳酸菌が載っているのを見つけました。北原先生を記念して付けた学名だそうです：[Oenococcus kitaharae — Wikipédia \(wikipedia.org\)](https://ja.wikipedia.org/wiki/Oenococcus_kitaharae)

さて、乳酸菌は“糖を代謝して 50%以上の乳酸を生成する偏性嫌気性でカタラーゼ陰性のグラム陽性細菌”と定義されています。これは筆者の研究をはじめた 1962 年ころには完全に確立されていた定義で今でも通用します。しかし発酵食品(ヨーグルト、チーズ、味噌、漬物、酒など)の研究から始まったこの古い歴史を持つ“乳酸菌学”も、当たり前の話ですが、大変進歩したことを今回勉強し直して改めて垣間見ることが出来ました。プロバイオティクスという言葉が出てきて、それは圧倒的に乳酸菌が大きな位置を占めているようです。Probiotics は Antibiotics の逆として作られた造語で訳語はないようです。Antibiotics はもちろん抗生物質のことで“生”(bio)は生物それも悪い病原菌を意味し“抗”はやっつけるという意味ですが、Probiotics はその逆でここでいう bio はヒトのことです。要するにヒトに「好い」とか「助ける」ということになります。そして Antibiotics が物質であるのに対して、Probiotics は生き物それも殆どが細菌類でしかも乳酸菌が圧倒的に多いということです。今盛んに巷では乳酸菌の入った“機能性”とか“健康”と銘打った食品やらクスリやらがもてはやされているし、「発酵食品はカラダに良い」とかいわれるし、“腸内細菌フローラ”など皆乳酸菌が関わっています。

抗生物質といえば、本会でたびたび話題提供して頂いている神奈川工科大学名誉教授松本邦男先生は、東洋醸造で抗生物質開発の仕事をされそのお話を聞かせて頂いていたのですが、実は過去に乳酸菌から酵素を精製するお仕事もされていると伺っていました。松本先生の後押しもあり、乳酸菌という「話題」を提供して、いろいろ皆様の蘊蓄を披露して頂き、疑問を討論するのも面白いかと考えた次第でしたが、筆者の稚拙な話のあと、松本先生がご自身の手がけられた乳酸菌から精製された臨床検査用の特殊な酵素のお話などをしっかりと伺うことができました。他にもいろいろな方々から活発なコメント、問題点指摘など出して頂き、準備不足の筆者のプレゼンテーションを盛り上げて頂いた事をご報告し改めて感謝申し上げます。

今回の話題提供は、本会理事の小川哲朗さんをお願いいたしました。小川さんは東京農工大学を卒業後入社した旭光学ペンタックス社でハイドロキシアパタイト担体を手掛け、クロマトグラフィの権威奥山先生が同社の顧問をして居られたことで研究室に出入りされて親しく指導を受けていた高弟の一人です。以前「バイオマテリアルの可能性追求と医療貢献--ハイドロキシアパタイトからコラーゲン、チタン合金まで--」という広範囲の題でお話して頂きました(SABSJ No112)。バイオマテリアルは、骨、歯、皮膚など広範囲にわたる人工材料で、カメラで有名な旭光学はセラミックスの研究もやっていて、骨や歯の構造物質であるリン酸カルシウムの結晶体ハイドロキシアパタイトの研究製造を行っていました。小川さんは入社時から、研究に携わり、その後海外にまで発展し、ドイツの会社を含む数社の CEO を歴任し、現在もバイオマテリアル関係の数社で顧問として活躍中

です。コロナ禍の前にドイツに渡りお仕事をされていましたがようやく少しコロナが収まって来た昨年帰国されました。今回はヨーロッパの様子やその後のご活躍のお話を中心に聞かせて頂くことになっています。ぜひご期待下さい。

次回バイオテクノロジー標準化支援協会 (SABS) 第 114 回 定例会

日時:2023 年 2 月 25 日(土) 13 時~17 時

場所:八雲クラブ(東京都立大学同窓会 渋谷区宇田川町 12-3 ニュー渋谷コーポラス 10 階)

話題提供者:小川哲朗氏 (マニー株式会社 開発本部アドバイザー、GDF Gesellschaft für Dentale Forschung und Innovationen GmbH)

定例会会場八雲クラブへの道順: 渋谷駅ハチ公交差点から井の頭通りの坂道の右側を東急ハンズの看板目指して上ります。ハンズの手前で右の急坂を登って行き、坂の途中で左に曲がりまた少し坂道を行き登り切った所で新しいパルク高層ビルを右に見ながら左側にある古い高層マンションがニュー渋谷コーポラスです。入口奥のエレベーターで 10 階に上ると直ぐ左隣の部屋が八雲クラブです。

定例会は、現在、原則として第 4 土曜日に開催しています。7 月と 8 月と 11 月はお休みです。

なお会場の都合で第 4 土曜日ではなく他の土曜日となることがあります。その場合は前もってお知らせいたします。

3 月は都合で第 3 土曜日の 18 日を予定しています。なお 4 月は予定通り第 4 の 22 日(土)です。

このジャーナルはバイオテクノロジー標準化支援協会 (SABS) 会員だけではなく、広い意味でのバイオテクノロジー関係の方々にも配信しています。現在、このジャーナルを読んで下さる方々は 600 名近く居られます。殆どの方が奥山先生の関係で、先生の広がった人脈に改めて驚いていますが、ぜひ読者の方々からも話題提供をして下さる方をお待ちしています。当 SABS ジャーナルのホームページ https://sabs.sabsnpo.org/sabs_j/ ではジャーナルの最新号を含めたバックナンバーが収録してあります。またお知り合いの方でこのジャーナルを配信希望の方が居られましたら会員である必要はありませんので筆者のアドレス thiyama@athena.ocn.ne.jp に直接お知らせください。また配信停止、新規会員登録、アドレス等の登録情報変更等のご希望やウェブサイトに関するご意見もメールでお知らせください。

当協会のもう一つの大きなプロジェクトはインターネットジャーナル「医学と生物学」の発行です。故緒方富雄博士が 1942 年に創刊した総合学術雑誌ですが、2013 年に休刊となってしまいました。当協会はこの学術雑誌を 2018 年に復刊しました。ネットで創刊号からのバックナンバーも収録しています: <https://medbiol.sabsnpo.org/EJ3/index.php/MedBiol/issue/archive>

(文責 檜山哲夫)

特定非営利活動法人バイオテクノロジー標準化支援協会

NPO Supporting Association for Biotechnology Standardization (SABS)

〒173-0005 東京都板橋区仲宿 44-2 URL:<http://sabsnpo.org>.

理事:荒尾 進介、小林 英三郎、田坂 勝芳、松坂 菊生、小川哲朗、川崎博史、檜山 哲夫

監事:堀江 肇 ネット管理:川崎 博史、田中 雅樹