



Title	Alcaligenes 10C3とAgrobacteriumの細胞外多糖類の生産能力と特殊酵素を用いたサクシノグリカンタイプ多糖類の構造解明
Author(s)	久松, 真
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/1313">https://hdl.handle.net/11094/1313</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	久	松	貴
学位の種類	工	学	博 士
学位記番号	第	5381	号
学位授与の日付	昭和	56年	6月29日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
学位論文題目	<i>Alcaligenes 10C3とAgrobacteriumの細胞外多糖類の生産能力と特殊酵素を用いたサクシノグリカンタイプ多糖類の構造解明</i>		
論文審査委員	(主査) 教 授 原田 篤也		
	教 授 芝崎 勲	教 授 岡田 弘輔	教 授 大嶋 泰治

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は*Alcaligenes 10C3*と*Agrobacterium*の多くの菌株が生産する産業上興味のある細胞外多糖類に関するものであり、主としてこれらの多糖類生産能力の自然変異と特殊酵素を用いる水溶性多糖類の構造解明の部分に分かれる。

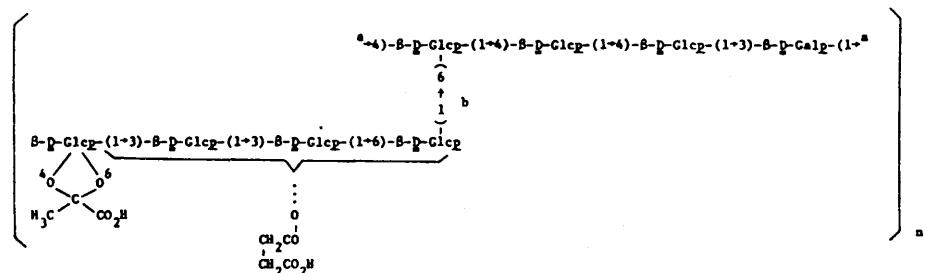
第一章 *Alcaligenes faecalis* var *myxogenes* 10C3は多量の水溶性多糖類(サクシノグリカン)と少量の水不溶性多糖類(カードラン)を生産するが、この菌株をペプトン酵母エキス培地などで長く保存するとカードランを多量に生産する変異株が出現する。この変異は細胞分裂が活発な時期には起こりにくく、むしろ細胞が死につつある時期に起こりやすい。また化学変異剤によっても高頻度で同様の変異株が出現する。

第二章 酸酵研究所保存の*Agrobacterium* 9菌株のうち4菌株には水溶性多糖類と水不溶性多糖類の生産性が著しく異なる菌が混在している。この中の1菌株*Ag. radiobacter* 1FO 12665の多糖類の生産能力は*Alcaligenes 10C3*と同様に自然変異する。

第三章 *Agrobacterium* 9菌株の水溶性多糖類は構成分としてグルコース、ガラクトース、コハク酸、ピルビン酸、酢酸を含んでいる。一方これらの多糖類はサクシノグリカンを特異的に分解する酵素の作用により单一のオリゴ糖となり、サクシノグリカンの構造ときわめて類似している。

第四章 サクシノグリカンに*Flavobacterium* sp. M64の細胞外酵素(サクシノグリカンデポリメラーゼ)と細胞内酵素(エンド-(1→6)- $\beta$ -D-グルカナーゼ)を逐次作用させると、サクシノグリカンは単位鎖8糖類を経て2つの4糖類に分解される。これらのオリゴ糖と多糖類のメチル化糖分析の比較検討などからして、サクシノグリカンの構造は図のごとくである。また、*Agrobacterium*と*Rhi-*

*zobium* の水溶性多糖類も同様な分析の結果から、基本的にはサクシノグリカンと同じ構造であり、コハク酸と酢酸の含量のみが異っている。



第五章 *Al. faecalis* var. *myxogenes* 22 の変異株 22-33 は 0.1% 酵母エキスを含んだ培地から大量のオリゴ糖を生産する。また菌株 22 をバシトラシンなどの抗生物質を加えた培地で培養してもオリゴ糖の生産の増加がみられる。このオリゴ糖の構造はサクシノグリカンの単位鎖 8 糖類の構造と同じである。さらにこのオリゴ糖はサクシノグリカンの生合成中間代謝物質と関連のある物質であることが示唆される。

### 論文の審査結果の要旨

細胞外に生産される微生物多糖類が食品用、工業用、さらに医薬用に応用開発されてきて、微生物多糖類の研究が応用微生物学の重要な研究対象となってきている。

本論文は *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 10C3 ならびに多くの *Agrobacterium* の菌株の細胞外多糖類の生産能力と生産される多糖類の構造とを明らかにしているものである。まず工業生産を目的とし、菌の多糖類生産性を研究し、不安定な生産性は自然変異の結果であることを明らかにし、変異株を用いて生産性を安定化することに成功している。ついで *Flavobacterium* sp. M64 のつくる細胞外酵素サクシノグリカンデポリメラーゼと細胞内の特殊な酵素エンド-(1→6)- $\beta$ -D-グルカナーゼを用いる新しい方法を考案してサクシノグリカンの構造を解明している。すなわちそれらの酵素の加水分解作用によって得られる単位物質の 8 糖類と 2 つの 4 糖類のそれぞれのメチル化糖の分析を行い、それらの結果を比較検討するなどして構造を明らかにしている。今後このような特殊な分解酵素を活用し、逐次分解を行い、もとの多糖類と分解物のメチル化糖分析の比較検討から構造を決定する方法は多糖類構造研究の有効な方法として広く採用されることであろう。

また本論文においてサクシノグリカンの単位物質が培地中に生産されることを発見し、この単位物質がサクシノグリカンの生合成の中間物質とも関係があるという興味ある結果が得られている。

以上の結果より本論文は微生物多糖類の生産の分野に大きな貢献をする一方、酵素と化学的方法とを組合せた多糖類の新しい構造研究の方法を提供しており、生化学の分野にも寄与するところがきわめて大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。