OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	クロカビの酸性プロテアーゼ優先合成の生理学的および動力学的研究
Author(s)	新名, 惇彦
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1796
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)	新名惇彦（しんみょうあつひこ）
学位の種類	工学博士
学位記番号	第1975号
学位授与の日付	昭和45年3月30日
学位授与の要件	工学研究科醱酵工学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**クロカビの酸性プロテアーゼ優先合成の生理学的および動力学的研究**
論文審査委員	(主査) 教授 照井 堯造 (副査) 教授 芝崎 勲　教授 田口 久治　授授 原田 篤也

論文内容の要旨

クロカビ *Aspergillus niger* のアデニン要求株U20-2-5はアデニン欠乏による増殖停止期が長く，この時期に酸性プロテアーゼなどの分泌酵素を多量に生産する。

生産酸性プロテアーゼの至適 pH は2.8，30°C では pH 3～5 で長時間安定である。培養沪液からゲル沪過，電気泳動による精製の結果，酸性プロテアーゼは培養期間中単一であった。

生産にはペプトン，蛋白質が良好で，無機窒素源ではほとんど生産されずペプトンの添加により誘導，除去により脱誘導を認めた。

培養経過は典型的な nongrowth-associated 型を示した。代謝アナログの添加または嫌気培養により酵素生産は速やかに停止し，酸性プロテアーゼの生成は優先合成型であった。アクチノマイシンDの添加によるRNA合成阻害後，酸性プロテアーゼ生産は数時間続き，mRNA の安定性が優先合成の大きな要因であった。増殖停止期で RNA は turnover し，これも優先合成の要因であった。脱誘導実験から mRNA の分解は一分子的であり，mRNA 濃度を酵素生産の律速段階と仮定した動力学モデルによく適合し，mRNA および全RNA の分解定数 k，λ ともに Arrhenius plot に従った。胞子接種では増殖期には生産は起らない。ペプトンで脱抑制した菌体の shift-up は抑制を受けず，ペプトンによる脱抑制は増殖期の抑制に対し非可逆的に作用した。脱誘導過程ではアデニン添加の影響はなかった。

誘導物質の検索をアミノ酸，アミノ酸誘導体，合成ペプチド，天然ペプチド，その他窒素含有物質について広く行なった結果，カゼインの酵素分解物が最も有効で，有効ペプチドの分子量はかなり大であった。

ペプトンは添加後約10時間の誘導 lag があり，ペプトンの菌体内取り込みは速いが，アクチノマイシンDによる阻害実験から mRNA 合成以前に原因があった。従ってペプトンから真の in-

ducer が出来る段階に lag があると思われる。アジピン酸が誘導物質として有効であったが高濃度では阻害を示した。アジピン酸では誘導 lag はないが，アデニン添加によりやはり抑制された。

増殖，酵素生産に対する外的因子のうち，pH は 3～4 がいずれにも好適であるが，温度は増殖には 30～32°C，酵素生産には 20°C 付近が最適であった。アクチノマイシンD による阻害，脱誘導実験より低温は mRNA を安定化し，動力学的解析ともよく一致した。

菌糸の活性分布をミクロな面から追求しところ，液内培養のパルプ状菌糸の伸長は先端で起るが，中央部でも次々と分岐が生じ，全体的には増殖活性の菌糸内一様分布が hanging-drop culture により認められた。放射性核酸塩基の取り込み，核酸合成もオートラジオグラムの結果，菌糸内でほぼ一様であった。液内培養のパルプ状菌糸では平均令を用いて解析しても大過ないものと結論された。

論文の審査結果の要旨

この論文はクロカビの酸性プロテアーゼ生産を対象として誘導，抑制および生産持続性の諸関係を mRNA の挙動を中心として一貫した動力学的モデルに対応する解析を行ない，その適合性を生理学的ならびに速度論的に立証したものであり，単に酸性プロテアーゼの生産制御に対して基礎的知見を与えただけでなく広く醗酵生産の動力学的ならびに生化学的知見に重要な寄与をなしたもので博士論文として価値あるものと認める。