

Title	黒麴菌の遺伝学的研究
Author(s)	黒田, 彰夫
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28330
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【 5 】

氏名・(本籍)	黒田彰夫 くろ た あき ち
学位の種類	工学博士
学位記番号	第 199 号
学位授与の日付	昭和 36 年 3 月 23 日
学位授与の要件	工学研究科醸酵工学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	黒麴菌の遺伝学的研究 (主査) (副査)
論文審査委員	教授 照井 堯造 教授 寺本 四郎

論文内容の要旨

この論文は有性生殖を欠く糸状菌の遺伝的性質の検討及び品種改良を目的とてなされたものである。Roper が偽似生殖と云われる方法を発見するまでは醸酵工業上有用である黒麴菌の遺伝学的研究は少なかった。偽似生殖環は有性でなく異核が融合して二倍体となりそのまま発育し稀に組換と半数体へ戻る現象である。

糸状菌の遺伝学的研究を行うためにはまず栄養要求変異株を簡単に分離することが必要であると考え変異株分離の簡便法を工夫した。

この方法によると少量の培地と労力で多数の菌株を抜うことが出来て栄養要求変異株をかなり容易に分離出来る様になった。

二倍体を作るのに用いる補足的遺伝学的標識について再検討した結果、胞子の色については多くのものが得られいずれも遺伝学的標識として使用可能であった。栄養要求性に関しては生合成反応の種々の所を支配する遺伝子を欠落した株を得ている。薬剤耐性は標識として興味あるものであるが現在用いたものは実際的に使用不能であった。

次に二倍体に於ける組換について検討した。

そのために半数体と二倍体を簡単に区別する必要があった。観察の結果胞子の大きさを測定することによって二倍体か半数体かが黒麴菌でも簡単にわかる様になった。これを利用して数個の標識について染色体地図の作製を試みた。その結果 5～7 個の連鎖群に分けられた。胞子の色に関する遺伝子は全て同一染色体上に位置していた。このことは生合成と遺伝子との密接な関係を示している。次に二倍体から半数体に戻る現象の一端を明らかにした。環境条件の変化に大きく影響されることがわかった。このことは品種改良に一つの新しい手段を提供した事となった。

以上の様な突然変異、二倍体、組換等の遺伝学的手段を用いて黒麴菌の糖化アミラーゼについて品種改

良の実験をした。 α -アミラーゼと Transglucosidase が適当に減少、消失するように突然変異を誘導することによって糖化アミラーゼのみとし高い糖化率を持つ株を分離出来る可能性を示した。二倍体を作ることは生産量を増加させることからみて有効な改良の手段である。更に組換えは新しい遺伝型の獲得に有力な手段であった。組換えを起した株の中には高い糖化率を持ち発育状態の良いものを得た事はこれを証明している。それ故に黒麹菌の如き有性生殖を欠く糸状菌においても異質遺伝型の導入と遺伝的組換えが可能でありかなりの程度まで人為的に品種改良が行える可能性のあることを示した。

論文の審査結果の要旨

この論文は *Aspergillus niger* の遺伝的性質を検討し、遺伝学的方法による品種改良のための基礎的問題を取扱ったもので緒論、5章および総括より成っている。

緒論においては、微生物とくに糸状菌の遺伝学的研究の現段階を述べ、*Asp. niger* の工業的重要性にかんがみ、偽似有性生殖的な生活史を利用する遺伝的形質の導入ならびに組換えによる優良菌株の獲得のため、基礎的研究の重要な所以を説き、さらにこの研究の大綱方針を述べている。

第1章は突然変異の誘発ならびに突然変異株の分離についての研究である。いくつかの遺伝的標識を得て以後の追求を容易ならしめるためにもこの研究は重要であるが、糸状菌において便利な方法を確立しておく必要がある。誘発方法は公知のものであるがここでは栄養要求変異株の濃縮分離法として、最少培地未発芽孢子汙過法を用いている。ただし一たん完全培地又は補足培地で平板培養し発育したコロニーのおのおのを試験管培地にとり栄養要求の有無を調べる従来の煩雑な方法を改良し、上の発育コロニーのおのおのからの孢子を最少培地の平板に移植し、不発育接種部位に残っている孢子を完全培地に移すという方法を案出した。

1次平板のコロニーが1平板当たり約20程度となるように汙液を稀釈し、孢子形成の条件を与え、2次平板の移植数は1平板当たり25~50となし得るもので、拾い上げられた孢子は大部分栄養要求性であったから、この方法は実際に非常に便利かつ確実なものと認められる。第2章は Heterocaryon および Heterozygous diploid をつくり、組換えの現象を調べるため、遺伝標識としての孢子の色、栄養要求性ならびに薬剤耐性などを検討した。色変異株は目印として便利であり、種々の色変異株を用いて Heterocaryon および Heterozygous diploid をつくって補足効果を調べ、Allelism, 位置効果, 栄養要求(とくにアデニン要求)との関連、色素生成の序列などにつき多くの興味ある結果を得ている。この結果は栄養要求性と共に、遺伝標識としても将来活用されるものと考えられる。一方薬剤耐性は、選別には便利な性質であるけれども、多くは優性のものであり、Kabicidine, 銅, コバルトなどへの耐性について検討したが、利用し得るものがなく、コバルト耐性の如きは複雑な分離を示している。また使用薬剤により新たに耐性株の出る確率も高いので注意を要するものとしている。【第3章は Heterozygous diploid よりの形質分離を調べたものでこの分離は Mitotic crossing over と Haploidisation とによるものであるが、方法論としてまず問題になるのは Diploid と Haploid との孢子の分別を容易ならしめることである。著者は孢子の大きさを測定し、*Asp. niger* においては Diploid 孢子は Haploid のものの約1.3倍の径を有し、径の

分散も小であって両者が殆ど重なることがなく、両者の中間に位置するものがあればこれは Aneuploid と見做し得ることを明らかにした。かくして容易に Ploidy の識別ができ、偽似有性生殖の方法による遺伝学的研究を容易ならしめたのであるが、これを利用し、前章で述べた遺伝標識の数箇を用い染色体地図の作成を試みた。Asp. niger については最初の試みであるが、5～7 箇の連鎖群に分けることができ、また孢子の色にかんしては遺伝子は全て同一染色体上にあることから、組換え頻度より位置の推定も行なわれ、さらに著者の実験範囲では栄養要求性の遺伝標識はこの染色体上にないことが示されている。Haploidisation の経過については詳細は不明であるが、著者の結果より、減数分裂的な Haploid 化ではなく、Aneuploid を通じて Haploid となるのでもなく、多数の染色体が一時に対をなさなくなるものと推定され、栄養条件や温度により Haploid 出現の頻度が変化するから核内生成反応における不均衡に基因するものと思われた。いずれにしても Haploidisation の過程を変化せしめ得ることが示され、品種改良法の上に新しい知見を加えた。第4章は Asp. niger の糖化アミラーゼ生産における遺伝的方法の応用を述べたもので、Asp. niger にかんしては従来は殆ど無方向的な突然変異を誘発してその中から合目的株を選び出す方法によっているが、遺伝学的方法による計画的な品種改良は行なわれていない。Asp. niger においては偽似有性生殖により改良すべき生産能として消化酵素、グルコースオキシダーゼ、有機酸などにかんするものが挙げられる。著者は差当り近時問題となっている糖化酵素の生産について、深部培養の容易な生産菌としての Asp. niger の品種改良への応用を試みた。その結果 Heterozygous diploid の形成により一定期間内に達成される糖化力単位を向上し得ることが明らかになった。

また酵素系の質的な問題に対しさらに検討を加え、 α -アミラーゼ生産性を減少せしめて、最終糖化率を高める方法は遺伝的には未だ成功し得ず、トランスグルコシダーゼ生産性の低い菌株を α -メチルグルコシド発育不良株中より選び出すことは、ある程度成功し、これにより比較的高位の最終糖化率を与える醗酵液を得ることができ、また有機酸を適度に生産して pH を低め α -アミラーゼを減少せしめつつ糖化アミラーゼ生成を続ける菌株をも得ており、これを基本とすれば今後の発展に期待すべきところが多い。

総括においては、諸結果を要約し、この研究の将来の発展ならびに応用面の開発に対する所見を述べている。

以上を要するにこの研究は工業系状菌として有用な Asp. niger を対象とし、その偽似有性生殖による生活史を利用して遺伝学的研究を遂げ、研究方法に改良を加えると共に、遺伝子配列や Haploidisation の様相などについて多くの知見を寄与し、その品種改良にかんする遺伝学的方法に対しても基礎的な貢献をなしたものである。よってこの論文は博士論文として価値あるものと認める。