OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	米麹の生理と水解酵素系に関する研究
Author(s)	森本, 輝彦
Citation	大阪大学, 1961, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28337
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【11】

氏名・(本籍)	森本輝彦（もりもとてるひこ）
学位の種類	工学博士
学位記番号	第205号
学位授与の日付	昭和36年3月23日
学位授与の要件	工学研究科醱酵工学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**米麹の生理と水解酵素系に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 照井 堯造　(副査) 教授 寺本 四郎

論文内容の要旨

この研究は米麹の代謝生理における特性並びにそれと関連した水解酵素系の問題点を解明するために行ったものである。

先ず製麹中の代謝要素の経時的変化を示したのであるが，液体培養との比較において，米麹では増殖量に比して水解酵素系の生産が比較的大であることを示し，併せて μ（比増殖率）と Qo_2（呼吸力）の経過が正常の関係に現れず，米麹では何らかの特殊な環境におかれていることが示唆された。μ 対 Qo_2 の関係の非平行性の成因として，培地から菌体へのグルコースの供給に不円滑があることを示し，これから考えると先の水解酵素の生産が比較的大で増殖量は小という現象の説明も可能になり，グルコースの拡散速度と水分との関係を調べた上で，米麹の水分条件は水解酵素の適応的生産にとっては満足すべき範囲にあることを示した。

次に pH 経過をとり上げたが，培養の30時間に低下の谷があって以後上昇することは私の実験では再現性に富む現象であり，グルコースの供給が悪くなると菌体内ないしは菌体近傍の培地から含窒素物質を炭素源として利用し始めて，アンモニア発生が起り始め，pH が上昇し始めるものら推論された。また Protease の生産経過を pH 経過と対応させると pH 経過の谷において，Protease の pH 7における活性が一旦低下ないしは停滞する現象が見受けられた。以後研究の重点は現段階において問題点の多い Protease に注ぐこととした。

即ち，タカジアスターゼから種々の Protease 区分を分別し，Acid protease Ⅰ，Ⅱ，Neutral protease Ⅰ，Ⅱ並びに Alkaline protease の存在を推定した。米麹の培養中において Acid protease 群，Neutral protease 群並びに Alkaline protease の3群間の組成比率が pH 経過といかに関連するかを討検したところ，米麹において Acid protease 群が Neutral，Alkaline protease 群に比して大なる割合を示すのは，原料末の精白度が比較的大なることから誘発される pH 経過と密接に関係していることを示した。

米麹の培養において培養温度の高低も亦 pH 経過に変化をもたらし，その結果 Protease 組成の変化となって現れることも述べたが，従来からの麹蓋培養では出麹の前に品温上昇の山があるが，Protease の生産面から考えると，品温の上昇は pH 経過を変化させ，Neutral，Alkaline Protease の生産を少しは促進すると考えられる。

また米麹を酵素源としても Acid protease の多様性を認め，更に複雑な系が存在することを見出した。即ちAcid protease Iα，Iβ，Iγ 及び Acid protease Ⅱ の4種の存在を推定したが，これらは互いに独立的ではなく，むしろ逐次的に変化する中間体を含むものと推定した。

論文の審査結果の要旨

この論文は米麹製造における麹菌の代謝生理の特性ならびに生成する水解酵素系の中，とくにプロテアーゼ系の検討を行ったもので，緒論，本文の2章および総括より成っている。

緒論においては研究の重点について述べている。第1章は米麹の生理と題し4節より成り，その第1節は代謝経過の一般的な様相を調べたもので，従来なされていなかった菌体量の測定を新たに設定した方法によって遂行し，これを他の代謝経過と関連せしめることにより，はじめてこの典型的な固体培養の生理的特性値を明らかにしたのである。その結果注目すべき特徴として比増殖率 μ と呼吸力 Qo_2 の2経過が普通米麹においては正常の相関を示さず後者の最高が前者のそれよりかなり後れて出現する事実を明らかにし，また水解酵素の比生成率は，他の培養型式に比し大であることを指摘し得た。

第2節は，前節で認めた μ と Qo_2 の特異な関係の要因を追求したもので，人為的にグルコースを添加し，あるいは水分を高位に保って製麹した場合，この特異な関係が解消され，μ と Qo_2 は常に正の相関を示すようになることならびに液体培養においても，単一炭素源たるグルコースの濃度を異常に低位に保ちながら培養すれば，普通米麹と同様の μ，Qo_2 関係が認められ，呼吸力発達の specific rate よりも菌体構成の specific rate の方がこの炭素源濃度低下により，より著明に衰えることを明らかにした。

すなわち，普通米麹の低位水分により，酵素作用ならびに拡散速度が低調化し菌体周辺のグルコース濃度が異常に低位に保たれながら生育することによって μ，Qo_2 の特異な関係を示すことが推定された。

第3節は水解酵素生成力や拡散速度などに対する水分含有量の影響を調べたもので，30～35%の水分を有する普通米麹の場合と，人為的に水分を増大せしめたものとについて代謝経過を比較するとともに，餅状とした培地模型についてグルコース拡散速度や水解酵素の作用速度を調べ，その結果，高位の水分を保持しながら製麹した時に見られる水解酵素生成能の低下は，培地中グルコース濃度が比較的高位に保たれるため，基質適応的酵素生成に対するグルコース阻害が起ったことに基因することを明らかにした。

第4節は米麹の pH 経過とその要因について取扱ったもので，麹切片への指示薬噴霧法により pH 分布のやや不均一なることを認め，また抽出法により追求した平均的 pH 経過より，培養30時間に pH の最低値（約4.5）があり，以後反転上昇することを認めた。この傾向は少くとも酒造用米麹にかんしては再現性に富むものであるが，この pH の谷以後においても代謝有機酸の蓄積が続けられるにも拘わらず反転上昇が起るのは菌体周辺のグルコースの不足により含窒素物を炭素源として利用する結果，代謝アン

モニアが生成するによることを推論した。またこの pH 経過の谷において pH7 におけるプロテアーゼ活性が一時低下ないし生産停滞する現象も見出された。

第2章は米麹の蛋白分解酵素系と題し，米麹における生成水解酵素の中，今日とくに問題となっているプロテアーゼ組成を追求したものであり，3節より成る。第1節は麹菌水解酵素製品中の酵素の分別と，得られたプロテアーゼ区分の特徴について検討したもので，イオン交換樹脂による吸着分別，リバノール処理ならびに電気泳動による分別を試み，酸性プロテアーゼは2区分に分別し得ることを発見し，Ⅰ，Ⅱの両区分は pH 5.5における電気泳動方向を異にするのみならず，Ⅰは EDTA によりより強く阻害され，SLS によっても少しく阻害されるが，Ⅱは SLS によってより強く阻害されることを明らかにした。また中性プロテアーゼも2区分に分別され，1区分はリバノール沈澱性，EDTA 阻害性であり，Ⅱ区分はリバノール非沈澱性，EDTA ならびに Potato inhibitor 阻害性であることを示した。さらにアルカリプロテアーゼは中性プロテアーゼと電気泳動上の性質を異にし Potato inhibitor で阻害され EDTA では阻害されないことを認めるとともに，従来主張されていた pH6 を最適とする微酸性プロテアーゼの存在に対しては否定的な結論を述べている。第2節は製麹中の pH 経過がプロテアーゼ組成に及ぼす影響を調べ，低位 pH 経過は酸性プロテアーゼ群の比率を高め，高位 pH 経過では，中性およびアルカリプロテアーゼの比率が大になることを明らかに，また比較的高温の培養経過をとれば中性およびアルカリプロテアーゼの比率が高まる傾向を示すのは，pH の反転上昇が速かになることと関連し，低温経過ではこの比率が低くなるのは pH 反転上昇が遅いことと関連しており，温度よりもむしろ温度経過によってもたらされた pH 経過がより直接的な相関を有するものとしている。第3節は酸性プロテアーゼの多様性とその原因とについて検討したもので，米麹より抽出精製した酵素区分について電気泳動試験をくり返し，酸性プロテアーゼは前節で認めたよりもさらに多様であり，Ⅰ区分はさらに，α，β，γの3区分に分別され，Ⅱ区分とを合わせて4区分の存在を明らかにした。阻害像においては，Ⅰ区分は全体としてほぼ相似であり，Ⅱ区分との相異は前記のようであるが，これらは互に起因的に独立するものではなく，プロテアーゼ蛋白の Transformation により一つのもの，おそらくⅡ区分から逐次変化して生成するとの可能性が強く指示された。たとえばⅡの区分を自己消化の後再び電気泳動すればⅠαの生成が認められ，ⅠαがさらにⅠβに変る傾向を捉えることができた。

このような Transformation はキモトリプシンにおいて認められているが，珍らしい現象であり，今後の研究対象として興味ある問題を提供したものである。最後に総括において本研究の主要な結果をまとめて論述している。

以上を要するにこの研究は永い伝統と研究の歴史を有する米麹なるものを生理学的に追求しその特性を解明した最初のものであり，とくにμ，Qo_2 関係と pH 経過の問題はこの研究によってはじめて取扱われたものであり，さらにプロテアーゼ組成と温度，pH の相関では製麹における過程管理にとって重要な資料を提供し，さらにプロテアーゼ組成とくに酸性プロテアーゼの多様性の発見，Transformation の知見，中性プロテアーゼの第2の区分の発見など学術的に高く評価せらるべき多くの業績を包含するものである。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。