The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 酵母細胞壁溶解酵素にかんする研究 |
| Author(s) | 田端, 司郎 |
| Citation | 大阪大学, 1964, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/28777 |
| 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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

【1】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 田端司郎（たはたしろう） |
| 学位の種類 | 工学博士 |
| 学位記番号 | 第 5 8 5 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和39年9月1日 |
| 学位授与の要件 | 工学研究科醗酵工学専攻<br>学位規則第5条第1項該当 |
| 学位論文題目 | **酵母細胞壁溶解酵素にかんする研究** |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 照井堯造　(副査) 教授 寺本四郎　教授 芝崎勲 |

## 論文内容の要旨

本論文は構造的にもまた，機能的にも未開拓のまま残されていた酵母の細胞壁を研究する上に必須である細胞壁溶解酵素系について，生産菌の検索から初められ，その酵素的性質と酵母細胞壁との関係ならびに酵母菌体利用工程への応用にかんする基礎的な問題を取扱ったものである。なお，この酵素系を利用して酵母細胞壁の機能を追求して得た2，3の知見も本論文に包含されている。

緒論において細胞壁とその溶解酵素にかんする現在までの研究の推移と本研究の目的を示した。

第1章は酵母細胞壁溶解酵素生産菌の分離と酵素生産条件の検討を行なったもので，酵母細胞壁溶解能大なる1放線菌 Streptomycesalbidoflavus について述べ，この菌株が生産する酵母細胞壁溶解酵素作用および活性度を濁度減少率によって測定する基準を示した。さらに，酵素生産条件にかんして酵母細胞壁溶解酵素は酵母細胞壁および酵母グルカンによって誘導的に生産されることを認め，窒素源として$NaNO_3$（$0.5\sim1.0\times10^{-2}$M）の添加によって著しく促進され，その効果は相当濃度のアンモニウム塩によって代用し得ないことを認めた。

第2章は酵素系の分画を行なったもので，第1章での酵素誘導実験の結果から得られた酵母グルカンの有効性は $\beta$-1,3-グルカナーゼの生産に寄与していることを認め，酵素系を分画して2つの溶解活性ピークを得た。その1方はプロテアーゼ活性，他方は $\beta$-1,3-グルカナーゼ活性に対応していることが確かめられた。両者は細胞壁溶解において相剰的効果を示し，プロテアーゼ区分は他種プロテアーゼでは置きかえられなかったが，Pronase によって代用されることを認めた。電気泳動的に単一区分に精製した $\beta$-1,3-グルカナーゼはグルカン，ラミナリンを加水分解して2糖および3糖を生成した。

第3章はプロテアーゼ区分の性質について検討したもので，特にプロテアーゼ活性と溶菌活性に重

ゝをおき両者の分画を試みた。その結果両者は澱粉ゲル電気泳動で3種の蛋白部分に分けられ，それぞれ溶解活性2種，プロテアーゼ活性1種と対応していたが，活性分布曲線が互に肩を示し合うことから酵母細胞壁溶解にある種の蛋白分解酵素が関係していると推定した。さらに，プロテアーゼ区分と Pronase との異同について ＥＤＴＡ，Potato Protease inhibitor に対する挙動から推察し，両者は別個のプロテアーゼであることが認められ，ゾーン電気泳動によってもそれが確証された。
また，Str. albidoflavusの生産する酵素は酵母ばかりでなく，カビ，細菌(グラム陰性菌)にも作用することを認めた。

第4章においては$\beta$-1,3-グルカナーゼが酵母細胞壁溶解に関与することからカビ類の生産する$\beta$-1,3-グルカナーゼに関して行なったもので，Penicillium，Trichoderma の生産する酵素と Aspergillus のそれとは至適 pH，電気泳動像において性質を異にしていたが，グルカンを加水分解した産物はすべてグルコースで，exo-グルカナーゼであると結論した。

第5章は酵母細胞壁溶解酵素を適用して得た酵母プロトプラストの生理的性質を検討したものである。まずプロトプラストを安定な状態として得る条件を求め，その呼吸能および醗酵能を比較検討したところ正常細胞のそれと大差なく，酸素に対するMichaelis恒数も正常細胞と変らず（それぞれ$1.4\times10^{-6}$M/L $2.0\times10^{-6}$M/L)酸素末端因子は ytochrome 呼吸酵素系によって支配されていると結論された。しかし酸素存在下での醗酵能に若干相違があり，プロトプラストは酸素によぬ醗酵阻害を受け難いことから，細胞壁を除くことによってリン酸が透過し易くなった結果と推定された。プロトプラストはこのように代謝活性を備えているので，増殖の可否を調べたが，ＤＮＡ，ＲＮＡ合成は行ない得るにもかかわらず，菌株は増加せず菌数当りのＤＮＡ量は初発の4倍にまで増加した。従って，増殖し得ないのは細胞壁の合成にかんする系が損なわれているものと推論した。

第6章においては第1章から第3章までに得られた結果に基づいて酵母細胞壁溶解酵素の工業的利用について行なったもので，酵母の食飼料化における1つの難点となっている難消化性を解決することと，栄養物質に富む酵母菌体から有効物質を抽出することを試みた。消化性にかんして，酵母菌体にわずかに酵素を作用せしめる程度でペプシン消化性の著しい向上を見た。さらに長時間作用させると溶解酵素中のプロテアーゼにより蛋白質が高度に加水分解されるもので，アミノ酸混液として食品への応用を開発すべき基礎的知見を与え得た。

## 論文の審査結果の要旨

論文審査の要旨

酵母細胞壁溶解酵素にかんする研究

本論文は酵母細胞壁溶解酵素の生産，酵素系の解明ならびにその応用についての研究をまとめたもので，緒論，6章および総括よりなっている。

緒論では既往研究の推移と，この研究の生化学的意義ならびに工業的重要性について論じ，研究の方針を併せ述べている。

第1章は酵母細胞壁溶解酵素生産菌の検索分離ならびに選択供用された菌種（Streptomyces albidoflavus）の同定およびこの放線菌による酵素生産の条件を述べ，とくに酵母細胞壁製品または酵母グルカンを与えることによって，酵母細胞壁溶解酵素が誘生されることならびに窒素源の中とくに硝酸塩は酵素生産に対し極めて有効であることを認めている。

第2章は酵素系の分画にかんするもので，酵母グルカンの誘生剤としての有効性はβ—1，3—グルカナーゼの生産を誘起するにあることを明らかにした。また，β—1，3—グルカナーゼ区分は酵母グルカン，ラミナリンより2糖および3糖を生産することを明らかにしたが，酵素系のDEAE—セルロースカラムによる分画の結果より，β—1，3—グルカナーゼ区分のみならずプロテアーゼ区分にも細胞壁溶解活性があることを確認し，かつ両者は細胞壁溶解において相乗的に作用することを明らかにした。なお，電気泳動的に単一な区分として得たβ—1，3—グルカナーゼ製品の基質特異性およびプロテアーゼ区分の他種プロテアーゼによる代替効果についても，2，3の検討を加え，後者については，既知の放線菌プロテアーゼにおいて弱いながらも代替効果があるのみで，その他のプロテアーゼは無効であることを認めている。

第3章はプロテアーゼ区分に対しさらに分画を試みたもので，プロテアーゼ活性と細胞壁溶解活性との両者を指標とし，澱粉ゲルを担体として電気泳動像を調べ，プロテアーゼ活性が細胞壁溶解活性を示すことを明らかにし，また，関与プロテアーゼの多様性を示唆する結果をも得た。なおプロナーゼは対阻害剤挙動の点よりしても本菌のプロテアーゼとは異なること，ならびに本菌の酵素系はカビおよびグラム陰性菌に対しても細胞壁溶解活性を示すことを併せ述べている。

第4章はカビ類の生産するβ—1，3—グルカナーゼについて検討し，供用菌種 Str. albidoflavus のものとの比較考察を行なったもので，後者のものは endo 型と認められるのに対し Aspergillus, Penicillium Trichoderma のものはexo型であって，濁度減少法による溶解活性は微であることを示僅した。

第5章は，第1章ないし第3章の諸結果を生理学的研究に応用する1例として酵母のプロトプラストの生成とプロトプラストの代謝活性について正常細胞との比較検討を行なったものである。まずこの酵素系を用いて安定なプロトプラストを得るための条件を測定し代謝挙動を調べた結果，無酸素的醗酵能および酸素呼吸の対酸素親和性は細胞壁を取除くことによってほとんど変化しないがパスツール効果において著明な変化があり，細胞壁の除去は有酸素的醗酵能を上昇せしめることを明らかにし，その原因については，細胞壁がリン酸透過に対する障壁となることと，パスツール効果の原因にかんするリン酸欠乏説とを結びつけた興味ある仮説を提出している。このプロトプラストは生長可能であり，RNA，DNAの増加が認められ，とくに後者は当初の4倍にまで増加し得るが，発芽による菌数増加を行ない得ないもので，細胞壁溶解の際細胞壁の合成系が損傷された結果と推論している。

第6章ではこの酵素系の工業的応用として，食飼料用としての酵母菌体の消化性向上のための一方法を考案した。すなわち細胞壁が消化酵素の透過に対する障壁をなすことが推察されるので，微量の本酵素剤をもって菌体を処理することにより，ペプシンおよびトリプシンによる消化性の向上を企図し，invitro の試験方法を確立したのち，その効果の著明であることを確認したものである。総括に

おいては各章の主な結果を要約している。

論文審査の結果

本論文は溶母細胞壁溶解酵素の醱酵生産にかんする基礎的知見を与え，酵素系の分画解明を行ない，酵素学的にもまた細胞壁の構造の見地よりしても有益な寄与をなし，さらに生理学的研究ならびに酵母工業に対するこの酵素の利用方法についても重要な貢献を行なったものであって，本論文は学位論文として価値あるものと認める。