

Title	枯草菌におけるアミラーゼ生産に関する遺伝学的研究
Author(s)	湯木, 昭八郎
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29064
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	湯 木 昭 八 郎 ゆ き しょう はち ろう
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 9 4 3 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 3 月 28 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	枯草菌におけるアミラーゼ生産に関する遺伝学的研究
論文審査委員	(主査) 教 授 吉 川 秀 男
	(副査) 教 授 奥 貫 一 男 教 授 殿 村 雄 治

論 文 内 容 の 要 旨

枯草菌のアミラーゼは細胞外酵素であって、バクテリアの成長が止った時期に大量に細胞外に生産され、細胞内には活性が認められないなど、微生物遺伝学においてくわしく研究されている細胞内酵素とは異なった生産様式を示す。このアミラーゼの生産については多くの生化学研究があるが、遺伝学的研究は全くなされていないのが現状である。本研究は枯草菌のアミラーゼの生産を支配している遺伝的機構について、型質転換を利用して解析を試みたものである。

1. 遺伝的分析をおこなうために、型質転換可能な *Bacillus subtilis* 168 およびその derivatives から孢子に紫外線を照射することによって、12個のアミラーゼ欠損株 (*Amyl*⁻) を分離した。分離した *Amyl*⁻ 株は完全にアミラーゼ生産能を失っていることが確かめられた。
2. JB 1—18 (*His*₂⁻*Amyl*⁴⁺) から抽出したDNAによって *Amyl*⁴⁻ 株の *Amyl*⁺ の型質転換をおこなった。その結果、枯草菌のアミラーゼは二つの離れた loci (*Amyl*-A, *Amyl*-B) に存在する遺伝子によって支配されており、そのうち、*Amyl*-A は *Try*₂ に弱い連関をしていることがわかった。
3. *B. subtilis* H(*B. subtilis* 168 を型質転換できる株) の17株が生産するアミラーゼについて寒天ゲル電気泳動法によって調べたところ、各株はそれぞれ pH 5.8 において陰極側に泳動する一本のバンドを示した。移動度は株によって異なり、現在まで6種の isozyme が見つかっている。例外として、1088株は3本あるいはそれ以上のアミラーゼ・バンドを示した。
4. *Amyl*⁴⁻ 株の原株である *B. subtilis* 168株(*Try*₂⁻ *Amyl*⁴⁺)とは異なったアミラーゼを生産する株 SB 44, (*X*⁺ *Amyl*¹⁺) JB 2—23 (*Thr*-*Amyl*²⁺) および 1088 (*X*⁺ *Amyl*¹⁰⁸⁸⁺) を donor として型質転換をおこなったところ、形成される *Amyl*⁺ transformants には、donor 型のアミラーゼを生産するものの外に、*Amyl*⁴⁺ すなわち168型のアミラーゼを生産するものがあつた。このことは *Amyl*

-A に酵素活性には無関係であるが、アミラーゼの電気泳動的性質を決定する site (E site) が存在することを示しており、Amyl-A はアミラーゼの構造遺伝子であると考えられた。またこれらのアミラーゼ遺伝子是对立関係にあると考えられ、組換えによって Amyl⁺ の mutation site が cure され、Amyl⁺ transformant が出現すると説明された。

5. 1088株を donor とした実験結果から、アミラーゼの生産量を決定する遺伝子 (Hal) およびアミラーゼ生産の glucose repressibility を決定する遺伝子 (Rep) が Amyl-A の近くに存在することが明らかになった。

論文の審査結果の要旨

湯木君の論文は枯草菌のアミラーゼに関する遺伝生化学的研究である。この酵素は細胞外酵素であるが、同君はまず形質転換 (transformation) の可能な168一株およびその誘導株の胞子に紫外線を照射してアミラーゼを生産しない12種の Amy⁻ 株を分離した。

これらの Amy⁻ 株を recipient としアミラーゼを生産する同種の株を donor としてそれから DNA を抽出し形質転換を試みた結果、枯草菌のアミラーゼは異なった座位にある2種の遺伝子、すなわち質を規定する Amy-A と量を規定する Amy-B によって支配され、その中 Amy-A 遺伝子は tryptophan 要求性の遺伝子と弱い連関を有することを見出した。

一方168一株に対して形質転換可能な種々の系統のアミラーゼを寒天電気泳動法によって調査したところ、現在までに6種類のアミラーゼアイソザイムを検出し得た。これらは1種を除き何れも単一の泳動帯を示した。そこで168一株のアミラーゼとは異なるアミラーゼアイソザイムをもつ株を donor として DNA を抽出し、168一株のアミラーゼ欠損株を recipient として形質転換を行なったところ、形成された Amy⁺ transformant の中には donor 型のアミラーゼを示すもののほかに recipient の168一株のアミラーゼを示すものが10~20%の割合で存在することがわかった。この奇妙な現象に対し湯木君は Amy-A 遺伝子の中にアミラーゼの活性を支配する、いわゆる active site のほかにアミラーゼの分子構造を規定する E という site を仮定し、donor と recipient の DNA の組換えの模様によって donor 型、あるいは recipient 型のアミラーゼの生ずる理由を巧妙に説明した。

以上湯木君の研究は実用的にはよく調査されているが遺伝生化学的にまだ十分分析されていない枯草菌のアミラーゼの性状に対し貴重な知見を与えたもので、これと関連をもつ参考論文と考え併せ、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。