The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	麦芽根中の核酸分解酵素系とその応用に関する研究
Author(s)	中桐, 義隆
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29753
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

【16】

氏名・(本籍)	中桐義隆（なかぎりよしたか）
学位の種類	工学博士
学位記番号	第 1694 号
学位授与の日付	昭和44年3月28日
学位授与の要件	工学研究科醗酵工学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**麦芽根中の核酸分解酵素系とその応用に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 照井 堯造 (副査) 教授 寺本 四郎　教授 芝崎 勲　教授 原田 篤也

論文内容の要旨

本論文はビール醸造の際に副産する麦芽根中の核酸分解酵素を利用したリボ核酸からの5′-イノシン酸および5′-グアニル酸の製造に関するものであり，基礎的条件の検討から，工業的生産を目的とした中間工業試験までの結果をまとめたものである。

第1編では麦芽根中に存在する工業的に利用可能な酵素の検索を目的に，種々な酵素活性を測定し，α-およびβ-アミラーゼ・インベルターゼ・プロテアーゼなどの他に強力な核酸分解酵素の存在することを示した。

第2編では麦芽根の核酸分解酵素系について詳細に検討し，リボ核酸から5′-ヌクレオチドを生成するリボヌクレアーゼⅠと2′,3′-サイクリックヌクレオチドを経て2′-および3′-ヌクレオチドを生成するリボヌクレアーゼⅡが存在すること，および生成したヌクレオチドを分解する5′-ヌクレオチダーゼ，3′-ヌクレオチダーゼ，ホスホモノエステラーゼの存在すること，さらにヌクレオシダーゼおよびヌクレオシドデアミナーゼの存在することを認め，麦芽根の核酸分解酵素系によるリボ核酸の分解経路を明らかにした。

さらに，これらの酵素の諸性質を検討した結果，リボヌクレアーゼⅠが他の酵素に比べ熱に安定であり，特に亜鉛イオンの存在下で特異的に耐熱性を増すことを見い出し，この性質を利用して，適当な条件で熱処理を行なうことにより，リボヌクレアーゼⅠのみを残し不必要な酵素を失活させ得ることを認め，麦芽根酵素を用いてリボ核酸から5′-ヌクレオチドを製造することが可能なことを示した。

第3編では麦芽根の核酸分解酵素を利用した5′-イノシン酸および5′-グアニル酸の工業生産を目的に工業用酵母リボ核酸を原料として諸条件の検討を行ない，その結果をもとに実施した中間工業装置における生産実験までの結果を示した。

核酸分解条件については第2で得た知見を基に，さらに詳細な検討を加え，麦芽根抽出液を10^{-3}モ

ルの亜鉛イオンの存在下 pH 4～7 において 70～75°C，5～20分間熱処理し，pH 6 附近，60～65°C でリボ核酸に作用させることにより80%以上の収率で 5′- ヌクレオチドが得られること，および麦芽根の使用量はリボ核酸に対して重量で 1/2 以上あれば十分であるが反応時間を短縮させるために 2 倍量を用いれば，3 時間で最高収率に達することを明らかにした。しかしこの方法では麦芽根から酵素を抽出する必要があり，操作が煩雑である。そこでさらに簡単な分解法につき種々検討した結果，麦芽根を水洗後抽出酵素液の場合と同様に熱処理を行ない，そのまま不溶性酵素として用いる新しい分解法を確立した。本法による 5′- ヌクレオチドの収率は抽出酵素液を用いる場合と同じであり，分解液への不純物の混入が少なく，工業的生産の場合の操作が簡便になり，しかも使用後の麦芽根がほぼ原型を保っているために飼料としての利用が可能であるなど多くの優れた利点を有することを認めた。

5′- ヌクレオチドの分離については，金属塩による分別沈澱を試みたが分離が不完全で採用し得ず，分析法に用いられているイオン交換樹脂法について検討を加え，工業的には塩酸を展開剤として用いることが有利であり，従来法よりも塩酸濃度を高くすることにより展開時間を短縮できることを認めた。

イオン交換樹脂法で分離した 5′- ヌクレオチドは活性炭処理により脱塩，濃縮を行なった。活性炭からの 5′- ヌクレオチドの溶出には通常アンモニア・エタノール溶液が用いられているが，アンモニア水のみで溶出可能なことを認め，さらに活性炭は連続再使用ができることを明らかにした。

さらに 5′- アデニル酸の 5′- イノシン酸への脱アミノ化反応および 5′- ヌクレオチドナトリウム塩の結晶化条件について検討を加え，これらの知見を基に中間工業装置における 5′- ヌクレオチドの生産実験を行なった結果，完全に満足し得るものではなかったが，工業生産における採算点と考えられる収率60%の線には達し得ることを認め，今後さらに改良を加えることにより本法による 5′- イノシン酸および 5′- グアニル酸の工業生産が可能なことを明らかにした。

論文の審査結果の要旨

本論文はリボ核酸からの 5′- イノシン酸および 5′- グアニル酸の製造において，麦芽根中の核酸分解酵素を利用する方法の開発を取扱い基礎的研究，および中間工業的試験を行ない，とくに麦芽根抽出液のかわりに麦芽根そのままを用い，リボヌクレアーゼ I が他の酵素に比し耐熱性が高く，亜鉛イオンによって特異的に耐熱性を増すことを利用して不用な酵素を失活せしめ，不溶酵素として分解に利用する新しい方法を確立し，さらに，これに関連した精製方法をも確立したもので，工業生化学，並びに醗酵工学に貢献するところ大である。よって本論文は，博士論文として価値あるものと認める。