



Title	セファロスポリウムの生産するアルカリ性プロテアーゼに関する研究
Author(s)	八木, 寿一郎
Citation	大阪大学, 1974, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31234
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

氏名・(本籍)	八木 寿一郎
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	第 3187 号
学位授与の日付	昭和49年8月31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	セファロsporiumの生産するアルカリ性プロテアーゼに関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 弘輔 (副査) 教授 芝崎 勲 教授 原田 篤他 教授 岩田 平太郎

論 文 内 容 の 要 旨

微生物プロテアーゼの研究は多いが *Cephalosporium* の生産物の研究は抗生物質、ステロイドが多くプロテアーゼは余りみられなかった。

この論文は *Cephalosporium* の1菌株 ATCC11550 が既存のプロテアーゼ生産菌に比して優るとも劣らぬプロテアーゼ生産能を有する事を確認し、培養条件を検討して工業的生産性を確立し酵素の理化学的性質を明らかにし、酵素の利用法として洗剤酵素並びに抗炎症作用の基礎的条件を研究したものである。

第1章では本菌が *Cephalosporium* 類縁菌並びに *Bacillus subtilis* に比して最も高い生産能を有する事を確認した。

第2章ではプロテアーゼの測定法を論じた。プロテアーゼはその作用が複雑で測定法が多いため実験目的により合目的方法を適用して酵素を評価した。

第3章では培養条件を検討した。培地組成の炭素源は澱粉、乳糖、窒素源は大豆粉、アンモニウム塩がそれぞれ有効で、醗酵槽の攪拌は300rpm が良好であった。

第4章では酵素の精製法を確立し、1部結晶化した。その高純度酵素は培養液にイオン交換体、セファデックスを用い、硫酸アンモニウム、アセトン分画をすると収率43%、比活性は50倍上昇してカゼインに対し8000u/mgを示し、物理的に均一な蛋白であった。

第5章では酵素の物理化学的性質を明確にした。沈降恒数 2.9 ± 0.05 、分子量22500、pH10.5で塩基性の強い蛋白で中性からアルカリ性になると立体構造が変化した。

第6章では化学的構造を明らかにした。N末端、C末端はいずれもセリンで202個のアミノ酸より

構成され、含硫アミノ酸としてメチオニン2個を有する単純蛋白であった。

第7章では酵素化学的性質を明らかにした。至適反応 pH は11で中性からアルカリ性に強い活性を示すアルカリ性プロテアーゼに属し熱に比較的安定なセリン酵素であった。

第8章では基質特異性を論じた。合成基質に対してロイシンアミノペプチターゼ様の作用を示し、トリプシンとキモトリプシンの両エステラーゼ作用を示した。

第9、10章では酵素の応用について検討した。洗剤においてポリエチレングリコール添加により残存活性を10%より80%に上昇して失活を防止した。動物実験でキモトリプシンと同程度の抗炎症作用と抗生物質の臓器への滲透作用を示した。

以上本酵素は *Cephalosporium* 属のユニークなアルカリ性プロテアーゼである事を明確にし、本菌がプロテアーゼ生産菌として有望である事を立証した。

論文の審査結果の要旨

本論文は *Cephalosporium* に属する1菌株が多量の protease を生産することを見出し、培養条件を検討して工業的生産性を確立したものである。更に本酵素の理化学的性質を明らかにするとともに用途開発の研究を行っている。

まず *Cephalosporium* sp. ATCC11550 菌が *Bacillus subtilis* などの protease 生産菌に比して最も高い生産能をもつことを認め、その培養条件を決定し、proteaseを精製結晶化に成功している。精製酵素について研究し、本酵素はアミノ酸202個からなるモノマー酵素であり、システイン残基を含有しないセリン酵素であること、約50%の β 構造を有しアルカリ側においては更に β 構造が増加する非常に特殊な蛋白質であることを明らかにしている。

本酵素は pH 4~11に安定性領域をもち、中性ないしアルカリ性において強い蛋白分解活性をもつほか、pepsin, trypsin, chymotrypsin, papain やその他の微生物起源の protease に比してさらに広い基質特異性をもつことを示した。以上の結果から応用分野として、洗剤酵素並びに抗炎症酵素剤としての利用について研究し、特に動物実験により、抗炎症作用と抗生物質の滲透促進作用をもつ毒性の低い酵素であることを立証している。

これらの研究成果は酵素化学及び応用酵素学の進歩に貢献するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。