

Title	Escherichia coli におけるアスパルターゼ生産菌株の育種に関する研究
Author(s)	西村, 紀之
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/36728
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	にし 西	むら 村	のり 紀	ゆき 之
学位の種類	工	学	博	士
学位の番号	第	8476	号	
学位授与の日付	平成元年3月2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	<i>Escherichia coli</i> におけるアスパルターゼ生産菌株の育種 に関する研究			
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 弘輔 教授 山田 靖宙 教授 大嶋 泰治			

論文内容の要旨

本研究は、固定化微生物によるフマル酸アンモニウムからのL-アスパラギン酸製造法の改良を目的として、アスパルターゼ高活性株の育種を行ったものである。

第1章では、*E. coli*の野生型株のアスパルターゼ合成がカタボライト抑制を受けているが、アスパルターゼ高活性変異株、EAPc 7株とEAPc 244株を分離している。両株とも野生株の7倍のアスパルターゼを生産するが、EAPc 7株はアスパルターゼ遺伝子(*aspA*)領域に、EAPc 244株はアデニル酸シクラーゼ遺伝子(*cspA*)領域に変異を有している。形質導入によって両株の変異を組み合わせると、野生株の15~20倍のアスパルターゼを生産する株、AT202株の育成に成功している。

第2章では、*E. coli* K-12株の*aspA*組換えプラスミドの安定化を研究している。多コピーの*aspA*組換えプラスミドpYT471はアスパルターゼ生産培地では不安定であるが、これに分配遺伝子(*par*)を組込んだpNK101は宿主中で安定に保持され、対照菌株の30倍のアスパルターゼを生産する。

第3章では、アスパルターゼ増産を目的として*aspA*をランナウェイプラスミドpSY343に連結してpYT125を作成している。このプラスミドは*E. coli* K-12内で不安定であったが、安定化変異株は野生型株の65倍のアスパルターゼを生産する。またpNK101をAT202株に導入した株は野生株の80倍のアスパルターゼを生産し、全菌体蛋白質の40~45%に相当するものである。

論文の審査結果の要旨

本論文は、固定化微生物法によるフマル酸アンモニウムからL-アスパラギン酸製造に重要な役割を担うアスパルターゼの高生産菌を遺伝子工学の手法を用いて育種したもので、次のような重要な結果を得ている。

- (1) *E. coli*のアスパルターゼに対するカタボライト抑制解除変異は、アスパルターゼ遺伝子内の変異でも、アデニル酸シンクラーゼ遺伝子内の変異によっても起るが、アスパルターゼ高生産を伴う。この2つの変異を1つの菌株に導入した株、AT202株ではアスパルターゼ生産性は相和的に増加する。
- (2) アスパルターゼ遺伝子をクローン化し、*E. coli*に導入するとアスパルターゼを生産するが、多コピーのプラスミドを用いると酵素生産培地中ではプラスミドが不安定となり消去が起る。この多コピープラスミドに分配遺伝子(*par*)を導入したプラスミド、pNK101は宿主中で安定化し、対照菌株の30倍のアスパルターゼを生産する。
- (3) アスパルターゼ遺伝子をランナウェイプラスミドに連結して得たプラスミドは*E. coli* K-12株内で不安定であるが、K-12の変異によって安定化させることができる。この安定化株は野生株の65倍のアスパルターゼを生産することができる。
- (4) pNK101をAT202株に導入した株は野生株の80倍のアスパルターゼを生産し、全蛋白質の40~45%を占めている。

以上のように本論文はアスパラギン酸の工業生産に必要なアスパラギナーゼ生産菌の育種について多くの基礎ならびに応用に関する知見を与えており、酵素工学ならびに遺伝子工学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。