The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36728
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

【74】

氏名・(本籍)	西村紀之（にしむらのりゆき）
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	*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
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，ＥＡＰｃ７株とＥＡＰｃ２４４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，ＥＡＰｃ７株はアスパルターゼ遺伝子（*aspA*）領域に，ＥＡＰｃ２４４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する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。