



| | |
|--------------|--|
| Title | 麹菌の生産するプロテアーゼに関する分子生物学的研究 |
| Author(s) | 辰巳, 宏樹 |
| Citation | 大阪大学, 1992, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/38290 |
| 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"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 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 辰 巳 宏 樹

博士の専攻分野の名称 博 士 (工 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 3 3 1 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 4 年 6 月 1 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 論 文 名 麹菌の生産するプロテアーゼに関する分子生物学的研究

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 大 嶋 泰 治

教 授 高 野 光 男 教 授 山 田 靖 宙 教 授 今 中 忠 行

論 文 内 容 の 要 旨

麹菌 *Aspergillus oryzae* の生産するプロテアーゼは、醤油醸造において原料タンパク質を分解し、醤油の呈味成分であるアミノ酸やペプチドを生成する重要な働きを行っている。本論文は、麹菌のプロテアーゼの改良を行うにおいて、基礎的に必要な本酵素の分子生物学知見を得るため、アルカリプロテアーゼと中性プロテアーゼⅡの2種のプロテアーゼを対象として、cDNA のクローニングと酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を宿主とした発現分泌について行った研究成果をまとめたもので、以下の7章から構成されている。

第1章は緒論であり、これまでの麹菌プロテアーゼに関する研究の経緯と近年の分子生物学の進展について述べ、本研究の目的と意義を明らかにした。

第2章では、アルカリプロテアーゼ cDNA のクローニングを行い、その塩基配列を決定することにより、アルカリプロテアーゼは一次的にはプレプロ型として翻訳生産されること、また、そのアミノ酸配列はセリンプロテアーゼであるサチライシンと約30%の類似性があることを述べた。

第3章では、プレプロ型アルカリプロテアーゼ cDNA を酵母宿主において発現させたところ、活性のある成熟型アルカリプロテアーゼが分泌され、その性質は麹菌の生産するアルカリプロテアーゼと一致することを示した。また、自己のタンパク質消化活性が、プロ領域の除去と分泌の両方に必要であることを示唆した。

第4章では、中性プロテアーゼⅡ cDNA のクローニングを行い、本酵素もプレプロ型として翻訳されることを明らかにした。さらに、その塩基配列から推定されるアミノ酸配列について、類似性検索により、中性プロテアーゼⅡは、既知のいずれのプロテアーゼとも異なる新しい型の金属プロテアーゼであることを提唱した。

第5章では、プレプロ型中性プロテアーゼⅡ cDNA を酵母宿主において発現させたところ、活性のある成熟型中性プロテアーゼが生産され、その諸性質は麹菌の生産する中性プロテアーゼと一致することを示した。プロ型より成熟型へのプロセッシングは、自己の触媒活性により消化される可能性と、宿主酵母細胞の金属プロテアーゼによる可能性が考えられた。

第6章は総合考察であり、本研究で得られた成果を総括するとともに、今後の展望について述べた。

第7章では本研究の内容を要約した。

論文審査の結果の要旨

麴菌の生産するプロテアーゼは醤油醸造において最も重要な酵素であると考えられている。しかしながら、その分子生物学的な知見は少ない。本研究では、これらのプロテアーゼのうち、アルカリプロテアーゼと中性プロテアーゼⅡに注目し、cDNA Aの構造解析および酵母での発現を行った結果をまとめたものであり、主な成果は次の通りである。

- 1) アルカリプロテアーゼおよび中性プロテアーゼⅡのcDNAの分離を行い、それらの塩基配列よりタンパク質の一次構造を推定している。両酵素はともに、プレプロ型として生産されることを明らかにし、さらに、その構造から、アルカリプロテアーゼはサチライシンファミリーに属するセリンプロテアーゼであること、また、中性プロテアーゼⅡは新しい型の金属プロテアーゼであることを提唱している。
- 2) アルカリプロテアーゼおよび中性プロテアーゼⅡのcDNAを酵母に導入し、発現させることに成功している。また、その酵母で生産した2種のプロテアーゼは、それぞれ、麴菌より生産された酵素と同じ性質を示すことを見いだしている。このことは、酵母での発現系により、両プロテアーゼのタンパク質工学的研究が可能であることを示している。
- 3) アルカリプロテアーゼおよび中性プロテアーゼⅡのプロ体より成熟体へのプロセッシングは、自己のタンパク質消化活性によることを示唆している。他の数種の微生物由来のプロテアーゼにおいても同様の結果が報告されており、麴菌のプロテアーゼも例外でないことを示している。

以上のように、本論文は麴菌の2種のプロテアーゼについて、多くの新しい知見を与えており、その成果は基礎分子生物学および醸造微生物の育種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。