

氏名	富永嘉男 とみながよしお
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第682号
学位授与の日付	昭和52年1月24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	STUDIES ON RHIZOPUS CELL LYSING ENZYMES (<i>Rhizopus</i> 細胞壁溶解酵素類に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 山田秀明 教授 枋倉辰六郎 教授 駒野 徹

論文内容の要旨

本論文は真菌類のうち、とくに Zygomycetes に属する *Rhizopus* の細胞壁を溶解する酵素を生産する微生物を検索し、生成した酵素類の精製法と酵素化学的性質を検討するとともに細胞壁溶解機構を詳細に検討した結果をまとめたものである。

著者が空気中より単離した *Bacillus* R-4菌はペプトン・デキストリン培地で良好に生育し、強力な細胞壁溶解酵素を生産する。この溶解酵素は多種類の真菌類の細胞壁を溶解するが、*Rhizopus* や *Mucor* の細胞壁をとくによく溶解するという特徴的な溶菌スペクトルを示す。この溶解酵素中にはそれぞれ溶解活性をもつキトサナーゼとプロテアーゼが含まれており、それらは SP-セファデックスを用いるカラムクロマトグラフィーによって分離できる。両者の *Rhizopus* 細胞壁の溶解力を比較したところ、キトサナーゼがプロテアーゼより約2倍強い溶解力を示し、さらに両者を混合して作用させると、分離前と同程度の溶解力を示した。このような結果から、*Rhizopus* の細胞壁の溶解はキトサナーゼとプロテアーゼによって行われることが明らかになった。これらのうち、キトサナーゼは分子量が約31,000で、pH5.6付近でキトザンをよく分解するがキチンやグルカンには全く作用せず高い基質特異性を示す。またプロテアーゼは分子量が約19,000で、pH7.6付近に至適 pH をもち、EDTA によって阻害される。Zn²⁺ が活性発現に必要であり、Ca²⁺ が安定化に寄与するなど、いわゆる中性プロテアーゼの諸性質をそなえている。しかしほかの微生物起源のプロテアーゼと比較すると、このプロテアーゼのみが *Rhizopus* 細胞壁溶解力を示すことから、基質特異性や作用様式が特異なものであると考えられた。

さらに電子顕微鏡による観察や化学的分析によって、キトサナーゼとプロテアーゼによる *Rhizopus* 細胞壁の溶解機構やその構造について詳細に検討し、*Rhizopus* 細胞壁が繊維状のキチンとキトザンおよびたんぱく質とが結合した単層構造をもつことが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

従来真菌類細胞壁溶解酵素に関する研究はグルカナーゼを主体とするものであって、その溶解の対象が Ascomycetes に属する菌類に限られていた。

著者は Zygomycetes に属する *Rhizopus* の細胞壁を強力に溶解する酵素類を生産する細菌 *Bacillus* R-4 菌を単離し、生成した酵素類の酵素化学的性質を明らかにするとともにこれらの酵素類による細胞壁溶解機構を詳細に検討している。主な成果はつぎのとおりである。

1. 空気中より細菌 *Bacillus* R-4 菌を単離し、この菌が真菌類とくに *Rhizopus* や *Mucor* の細胞壁に強力に作用する溶解酵素を生産することを見いだした。
2. この溶解酵素を SP-セフデックスを用いるカラムクロマトグラフィーによって精製し、この溶解酵素がそれぞれ溶解活性をもつキトサナーゼとプロテアーゼから成ることを明らかにした。
3. キトサナーゼの諸性質について追求し、この酵素がキトザンのみを分解し、キチンやグルカンには作用しないという高い基質特異性をもつことを明確にした。なおこのキトサナーゼは真菌類細胞壁溶解酵素として初めて見いだされたものである。
4. プロテアーゼについて追求し、このプロテアーゼはいわゆる中性プロテアーゼとしての諸性質を示すが、ほかの微生物のプロテアーゼと比較して基質特異性や作用様式が特異なものであると推察した。
5. さらに電子顕微鏡による観察や化学的分析によって、キトサナーゼとプロテアーゼによる *Rhizopus* 細胞壁の溶解機構やその構造を詳細に追求し、*Rhizopus* 細胞壁が繊維状のキチンとキトザンおよびたんぱく質とが結合した単層構造をもつことを明らかにした。

以上のように本論文は真菌類の細胞壁溶解酵素に関する研究に重要な新知見を加えたものであり、応用微生物学および酵素化学に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。