【222】

氏　　　　名	平　井　正　名（ひら　い　まさ　な）
学位の種類	工　学　博　士
学位記番号	工　博　第　486　号
学位授与の日付	昭和52年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	工学研究科工業化学専攻
学位論文題目	**Studies on the regulation of some glycolytic enzymes and NADP-linked dehydrogenases in hydrocarbon-utilizable yeasts** （炭化水素資化性酵母における2.3の解糖系酵素及びNADP依存脱水素酵素の調節に関する研究）
論文調査委員	（主査）教授 福井三郎　教授 河西三省　教授 松浦輝男

論文内容の要旨

従来の糖質醱酵にかわり，石油系炭化水素や石油化学二次製品を原料とする醱酵が登場し，醱酵工業の新領域となりつつある。*Candida* 属酵母はこの目的に適した微生物として最も重要なものの1つとされているが，実用面での成果を生むための基礎となる生理と代謝に関する知見はきわめて乏しい。

本論文は *Candida* 属酵母の代謝における基礎的な知見を得ることを目的とし，解糖系酵素，並びにNADP（ニコチンアミド アデニン ジヌクレオチド リン酸）依存脱水素酵素の調節様式について研究した結果をまとめている。

第1編では，解糖系の律速酵素であるピルビン酸キナーゼ，ならびに六炭糖リン酸化酵素の調節様式についてまとめている。

第1章では，酵母のピルビン酸キナーゼが，アロステリックな活性化剤である果糖1，6-ビスリン酸(FBP)に対する感受性という点で，3つのグループに分類出来ることを明らかにし，この生理的意義について調べている。*Saccharomyces* 属酵母，及び醱酵能を持つ *Candida* 属酵母のピルビン酸キナーゼは，FBPによる活性化を受けるが，本物質の効果は前者において，より著しいことを認めた。これらの酵母における本酵素の調節は，FBPによるアロステリックな活性の調節，及び酵素量の変動による調節という2つの様式によってなされており，一方醱酵能を持たない *Candida* 属酵母では，FBPによる活性化を受けず，酵素量の変動によってのみ本酵素の調節が成されていることを示した。

第2章では，醱酵能を持つ *Candida tropicalis* の無細胞抽出液より基質特異性の異なった2種のブドウ糖リン酸化酵素を種々の手法を用いて分離，精製し，各々の諸性質を明らかにしている。一方はブドウ糖以外に果糖に対しても高い活性を示すヘキソキナーゼであり，本酵素は上記の糖類により誘導生成される。他方はフルクトースに対する活性を示さないグルコキナーゼであり，本酵素は酵母菌体中に常に一定量存在している。また，醱酵能を持たない *Candida lipolytica* にも上記2種の六炭糖リン酸化酵素の存在が認められたが，その調節様式は先の酵母とは異なっていることを証明した。

第2編第1章では，種々の炭素源，及び窒素源で生育した際の2種の *Candida* 属酵母における，いくつかの NADP，及び NAD 依存脱水素酵素活性の細胞内局在性及び変動を調べた結果をまとめている。この結果より，脂肪酸，アミノ酸等の菌体構成成分の合成に必要な還元型 NADP (NADPH) の供給系が，用いた炭素源の種類によって変化することを明らかにしている。

第2章では，NADP 依存脱水素酵素であるブドウ糖6-リン酸脱水素酵素，及び6-ホスホグルコン酸脱水素酵素を *Candida tropicalis* の無細胞抽出液よりそれぞれ精製し，その反応動力学的諸性質について調べた結果をまとめている。

第3章では，種々の炭素源で培養した *Candida tropicalis* における，トリカルボン酸回路，及びグリオキシル酸回路の酵素の細胞内局在性について調べた結果をまとめている。

論文審査の結果の要旨

Candida 属酵母は石油系炭化水素や石油化学二次製品を原料とする有用物質の生産に利用される重要な微生物の1つであるが，実用面での研究に比較して基礎的な生理と代謝に関する情報はきわめて乏しい。

本論文は数種の代表的な *Candida* 属酵母をブドウ糖，アルカン，酢酸，エタノールに培養し，*Saccharomyces* 属酵母がブドウ糖に生育する場合と比較しつつ，解糖系における重要な酵素のピルビン酸キナーゼ，六炭糖リン酸化酵素と菌体成分の生合成に必要な還元型 NADP の供給に関与する各種の NADP 依存脱水素酵素の性質，量的変化，調節機構を詳細に調べたものである。得られた成果は次のごとくである。

(1) 解糖系の律速酵素ピルビン酸キナーゼが酵母の種類によりアロステリックな活性化剤である果糖1，6-ビスリン酸 (FBP) に対する感受性の点から3つの群に大別できることを明らかにし，それらの酵母の炭素源利用性，代謝の特徴に対応して合理的に酵素量の調節と FBP による活性の制御が行われることを示した。

(2) 解糖系における最初の過程に関与する六炭糖リン酸化酵素に関して，*Candida tropicalis* は基質としてブドウ糖を利用するグルコキナーゼの外にブドウ糖以外に果糖も利用するヘキソキナーゼを持ち，前者は構成酵素として炭素源の種類にかゝわらず常に一定量存在するのにたいし，後者は炭素源として糖類を用いた場合に誘導生成されることを認め，炭素源の種類による解糖系の流れと酵素の種類及び量の変化の関係に興味深い新事実を明らかにした。

(3) *Candida* 属酵母におけるいくつかの NADP–及び NAD 依存脱水素酵素の細胞内局在性，炭素源及び窒素源の種類による活性の増殖経過に伴う変動を詳細に追跡し，炭素源ならびに窒素源の相違により菌体成分の生合成に必要な還元型 NADP の供給に関与する脱水素酵素の種類が変化する様相を示した。また NADP 依存脱水素酵素のブドウ糖6-リン酸脱水素酵素，6-ホスホグルコン酸脱水素酵素を *C. tropicalis* より精製し，その反応動力学的性質を調べ，トリカルボン酸回路及びグリオキシル酸回路の酵素の細胞内局在性についても研究を行った。

以上を要するに本論文は炭化水素，石油化学二次製品を利用して増殖し有用物質の醱酵法による生産に利用される *Candida* 属酵母の解糖経路，糖新生経路，NADPH 供給系に関与する酵素の性質と量ならび

に活性の調節について基礎的な知見を与えたものであり，学術上ならびに工業上貢献するところが少なくない。

よって，本論文は工学博士の学位論文として価値あるものと認める。