

氏 名 山 崎 良 樹
やま ざき よし き
 学位の種類 農 学 博 士
 学位記番号 論 農 博 第 801 号
 学位授与の日付 昭 和 54 年 5 月 23 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 α -GLUCOSIDASE AND
 GLUCOAMYLASE FROM MOLDS
 (糸状菌の α -グルコシダーゼとグルコアミラーゼに関する研究)

論文調査委員 (主 査)
 教 授 枡 倉 辰 六 郎 教 授 千 葉 英 雄 教 授 山 田 秀 明

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* および Basidiomycetes に属する糸状菌から α -グルコシダーゼおよびグルコアミラーゼを精製あるいは結晶化して, 諸性質を比較検討した結果をとりまとめたものである。内容を要約すると次のとおりである。

(1) *Mucor javanicus* の菌体から常法の超音波, フレンチプレス, 界面活性剤, アルミナ磨砕などの処理では α -グルコシダーゼを菌体外に取り出すことができなかったが, 尿素抽出法により簡単に本酵素の無細胞抽出液を調製することができた。菌体の 4M 尿素抽出液から本酵素をアセトンおよびポリエチレングリコールによる分画沈澱, セフアデックスおよび DEAE セルロースカラムクロマトグラフィーにより精製し, ついで精製酵素液にアンフォライン (pH 7~9) を添加して本酵素を結晶化した。本結晶酵素は電気泳動のおよび超遠心的に単一であり, グルコサミンおよびマンノースを含む糖タンパク質であった。本酵素はイソマルトースおよびパノースに作用せず, デンプンにマルトースとほぼ同速度で作用し, またマルトースから転移生成物としてマルトリオースを生成するなどの点で既知の微生物源の酵素と相違していた。

(2) *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus* および *Lentinus* 属菌の α -グルコシダーゼを高度に精製し, *Aspergillus* 属の酵素以外はいずれもデンプンによく作用することを認めた。またこれらの酵素は 4 グループに大別されることを指摘した。

(3) *M. rouxianus* から 2 種のグルコアミラーゼ I および II を初めて結晶化した。両酵素は分子量および生デンプン糖化能が異なり, 酵素 II は酵素 I の約 3 倍の速度で生デンプンに作用し, 米デンプンの分解限度は酵素 II が 100%, 酵素 I が 50% であった。

(4) *Penicillium oxalicum* の菌体から 2 種のグルコアミラーゼを高度に精製し, 両酵素は生デンプン糖化能が極めて強いことが特徴であることを示した。

(5) デンプン水解作用をもつ α -グルコシダーゼは, その作用のみに注目すれば一種のグルコアミラー

ゼとみなすことができるが、マルトースとデンプンに対する反応速度比および糖転移作用の強弱に加えて、アミロースからの分解生成物のアノマー型の相違からいわゆるグルコアミラーゼとは区別された。すなわち、*M. javanicus*, *M. racemosus*, *P. oxalicum*, *L. edodes*の α -グルコシダーゼはいずれもアミロースから α -グルコースを、一方 *M. rouxianus*, *P. oxalicum*, *A. awamori*, *L. edodes*のグルコアミラーゼはいずれも β -グルコースを生成した。

論文審査の結果の要旨

著者は、*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, Basidiomycetes などに属する各種糸状菌から α -グルコシダーゼおよびグルコアミラーゼを純化あるいは結晶化する方法を明らかにしている。また両酵素の諸性質を比較し、(i)マルトースからデンプンにまで作用する広い特異性を有する α -グルコシダーゼの存在の有無、(ii) α -グルコシダーゼとグルコアミラーゼの作用型式の相違点、(iii)生デンプン糖化能の強い酵素の存在などについて詳細な研究を行なっている。主な成果は以下のように要約される。

(1) *Mucor javanicus* の菌体から常法では α -グルコシダーゼを菌体外に取り出すことができなかったが、尿素抽出法により容易に本酵素の無細胞抽出液を調製することに成功した。酵素抽出法として尿素添加法を開発した本研究は高く評価できる。尿素抽出後、本酵素をカラムクロマトグラフィーにより精製し、ついでアンフォライン (pH 7~9) を添加して本酵素を結晶化した。この方法は低タンパク濃度の酵素液や部分精製標品から酵素を純化できる新規結晶化法である。本酵素は電気泳動のおよび超遠心的に単一であり、グルコサミン、マンノースを含む糖タンパク質であった。また本酵素は初めて結晶標品として得られたデンプンに作用する α -グルコシダーゼであった。

(2) 各種の *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* および *Lentinus* 属菌の α -グルコシダーゼを高度に精製し、*Aspergillus* 属の酵素以外はいずれもデンプンによく作用することを確認した。さらに糸状菌の α -グルコシダーゼは4グループに大別できることを指摘した。

(3) *M. rouxianus* から2種類のグルコアミラーゼを結晶化した。同一糸状菌が生産する多型のグルコアミラーゼをそれぞれ結晶化したのは本研究が最初である。

(4) *Penicillium oxalicum* の菌体から1種の α -グルコシダーゼと2種のグルコアミラーゼを単一にまで精製して諸性質を明らかにした。本菌の両グルコアミラーゼの生デンプン糖化能は他の糸状菌の酵素に比べて著しく強いことが特徴的であった。

(5) デンプン水解作用をもつ α -グルコシダーゼは基質に対する反応性および糖転移作用の強弱に加えて、アミロースからの分解生成物のアノマー型の相違から、いわゆるグルコアミラーゼとは区別された。

以上のように、本論文は糸状菌の生化学に新しい知見を加えたものであり、微生物生産学および醗酵生理学に寄与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。