

氏名 竹之内 英一  
 たけの うち えい いち  
 学位の種類 農学博士  
 学位記番号 農博第320号  
 学位授与の日付 昭和55年3月24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 農学研究科農芸化学専攻  
 学位論文題目 Studies on L-Lysine Biosynthesis by S-( $\beta$ -Aminoethyl)-  
 L-cysteine Resistant Mutants of *Candida pelliculosa*  
 (*Candida pelliculosa* の S-( $\beta$ -アミノエチル)-L-システイン  
 耐性変異体によるL-リジン生合成に関する研究)  
 (主査)  
 論文調査委員 教授 山本龍男 教授 山田秀明 教授 駒野 徹

### 論文内容の要旨

L-リジンは必須アミノ酸の中でもとくに不可欠度の高いアミノ酸として栄養学的にも生化学的にも重要なものである。細菌のリジン生合成系(ジアミノピメリン酸経路)については細菌変異株によるリジンの生産法の開発とともにその代謝調節機構などが詳細に研究されて来た。しかし酵母やカビのリジン生合成系は細菌のそれとは全く異なり、 $\alpha$ -アミノアジピン酸を重要な中間体とすることが知られているものその代謝調節機構や関与する酵素系については殆んど明らかにされていない。

本研究は酵母におけるリジン生合成系の代謝調節機構を明らかにするとともに、酵母を用いたリジンの発酵生産の可能性を詳細に追究したものである。

まず *Candida pelliculosa* の野生株からリジンの硫黄アナログ S-( $\beta$ -アミノエチル)-L-システイン(SAEC)に耐性の変異株を、N'-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(NTG)処理や紫外線照射によって誘導し、リジン生産性を検討した。さらにそのリジン生産性向上を目的として、NTG処理や紫外線照射処理の繰返しによる多量蓄積変異株の誘導、あるいは有機酸、アミノ酸、界面活性剤、金属イオン、ポリペプトンの添加等種々の条件設定を行い、SAEC耐性変異株の一株SR-V-1263株で3.2g/lのリジンを培地中に蓄積させることが出来た。なお得られた変異株の約80%がオルニチンを比較的高濃度に副生する現象をも見出している。

ついで耐性変異株SR-V-1263のリジン生成蓄積機構を明らかにするため、[1- $^{14}$ C]-酢酸や[6- $^{14}$ C]-DL- $\alpha$ -アミノアジピン酸等の標識前駆体の取り込みに対するリジンやSAECの影響を検討した結果、野生株におけるリジンとSAECの作用部位はリジン生合成の初発酵素であるホモクエン酸合成酵素であり、耐性変異株SR-V-1263では酵素に対するリジンのフィードバック調節が解除されていることが示唆された。

さらに *Candida pelliculosa* の野生株、変異株の無細胞抽出液からホモクエン酸合成酵素を部分精製して、諸性質を検討した。その結果、本菌にはA、B2種の酵素が存在し、野生株では酵素Bのみがリジン

の阻害を受け、変異株では酵素Bのリジンによる阻害が解除、脱感作されており、これが本株のリジン生成蓄積の主要な原因であることが解明された。

### 論文審査の結果の要旨

哺乳動物の必須アミノ酸 L-リジンの細菌による生合成系とその生産法については詳細に研究されているが、酵母、カビの L-リジン生合成系は細菌とは全く異なり、 $\alpha$ -アミノアジピン酸を重要な中間体とすることが知られてはいるものの、その代謝調節機構、関与する酵素系などについてはほとんど明らかにされていない。

本論文は酵母におけるリジン生合成系の代謝調節機構の解明と、酵母によるリジン生産の可能性を追究したものである。

まず *Candida pelliculosa* の野生株からリジンの硫黄アナログ、S-( $\beta$ -アミノエチル)-L-システイン (SAEC) に耐性な変異株を誘導し、変異株の一株 SR-V-1263 を用い培地中に 3.2g/l のリジンを蓄積させることに成功した。

ついでこの耐性変異株のリジン生成蓄積機構を明らかにするため [1- $^{14}$ C]-酢酸および [6- $^{14}$ C]- $\alpha$ -アミノアジピン酸など標識前駆体の取り込みに対するリジンや SAEC の影響を検討して、野生株におけるリジンと SAEC の作用部位は、リジン生合成の初発酵素であるホモクエン酸合成酵素であることを明らかにし、耐性変異株では本酵素に対するリジンのフィードバック阻害が解除されていることを明らかにした。

さらに *Candida pelliculosa* の野生株、変異株の無細胞抽出液からホモクエン酸合成酵素を部分精製し、その酵素化学的諸性質を検討した結果、本菌には A、B 2 種の酵素が存在し、野生株では酵素 B がリジンの阻害を受けるが、変異株では B のリジンによる阻害が解除されており、これが本菌株のリジン生成蓄積の主要な原因であることを明らかにした。

以上のように本論文は酵母における L-リジンの代謝調節機構の一端を解明し、併せて酵母によるリジン生産の可能性についても検討したもので微生物化学、応用微生物学の分野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。