

氏 名	中 尾 義 雄 なか お よし お
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 19 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 38 年 6 月 25 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 the Degradation of Nucleic Acids by Microbial Enzymes (微生物酵素による核酸類の分解に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 緒 方 浩 一 教 授 満 田 久 輝 教 授 小 野 寺 幸 之 進

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は微生物酵素によるリボ核酸 (RNAと略記する) およびデオキシリボ核酸 (DNAと略記する) などの分解に関する研究成果を10章にわたって論述したものである。

第1章は緒論であって本研究の目的、意義ならびに研究成果の概略について述べている。5′-Mononucleotide および 5′-deoxymononucleotide は生化学的にきわめて重要な物質であるばかりでなく、その中の 5′-inosinic acid および 5′-guanylic acid はかつお節などの呈味性成分の主体であるが、従来これらの製造はきわめて困難であった。著者は RNA および DNA をそれぞれ対応する 5′-, 3′-mononucleotide ならびに RNA を oligonucleotide に分解する酵素系を生産する微生物を多数見出し、それらの工業的製造方法の基礎を確立したばかりでなく、微生物の核酸代謝に関する新しい事実を見出した経過について述べている。

第2章では RNA を 5′-mononucleotide に分解する菌体外酵素系を生産する微生物の分布について明らかにした結果を述べている。すなわち 5′-mononucleotide を迅速に定量しうる 5′-nucleotidase および abenosine deaminase を用いる酵素定量法を使用して多数の放線菌、かび、酵母およびバクテリアの培養液で RNA を分解して 5′-nucleotide 生成能を有する微生物のスクリーニングを行なった。その結果 *Streptomyces*, *Bacillus*, *Fusarium*, *Helimitosporium*, *Neurospora*, *Glomerella*, *Aspergillus* などに属する多数の微生物の培養液中に本酵素系の存在を認めた。

第3章は RNA を 2′- (3′)-mononucleotide および oligonucleotide に分解する菌体外酵素系を生産する微生物の分布について検討した結果について述べている。すなわち 2′- (3′)-mononucleotide を迅速に定量するために non-specific phosphomonoesterase を用いる酵素定量法によって 2′- (3′)-mononucleotide を定量し、また RNA を分解するが 5′-および 2′- (3′)-mononucleotide を生成せず、また無機リンをも遊離しないことで oligonucleotide の生成を認めた。その結果、RNA を 2′- (3′)-mononucleotide に分解する菌体外酵素系の生産菌として *Rhodotorula*, *Spolobolomyces*, *Penicillium*,

Aspergillus, *Rhizopus* などに属する多数の菌株, oligonucleotide に分解する 菌体外酵素系の 生産菌として *Candida*, *Bacillus*, *Absidia*, *Mucor*, *Polystictus* などに属する菌株を得た。

第4章ではDNAを5'-deoxymononucleotide に分解する 菌体外酵素系を生産する微生物の検索を行なった結果について述べている。すなわち *Bacillus subtilis* の一株を除いて RNA を5'-mononucleotide に分解する酵素系を生産する微生物はすべて DNA をも 5'-deoxymononucleotide に分解した。一方 RNA を2'-(3')-mononucleotide あるいは oligonucleotide に分解する微生物はDNAをまったく分解しなかった。また DNA を3'-deoxymononucleotide に分解する 酵素系を生産する微生物は見出されなかった。

第5章ではRNAを5'-mononucleotideに分解する酵素系を生産する微生物の中から *Aspergillus quercinus*を選び、本菌による RNA の分解について詳細に検討した結果について述べている。本菌は少なくとも2種類の RNA -depolymerase, phosphodiesterase, phosphomonoesterase と adenylic acid deaminase を生産することを明らかにした。すなわち本菌の培養液で RNA を分解する際、pH6.0以下では3'-mononucleotide, pH8.5以上では5'-mononucleotide が生成しpH 6.0~8.5では3'-および5'-mononucleotide の混合物が得られる。この結果にもとづき培養液を用いてpH8.75で RNA を5'-mononucleotide に分解したのち菌体中の adenylic acid deaminase を作用させて高収量で5'-inosinic acid および5'-guanylic acid を調製し、これらの工業生産の基礎を確立した。

第6章では *Aspergillus quercinus* および *Streptomyces aureus* の菌体外酵素系による DNA の分解について述べている。*Aspergillus quercinus* の菌体外酵素系は DNA を pH 6.0以下ではほとんど分解しないが、pH 6.0以上では5'-deoxymononucleotide に分解する。各5'-deoxymononucleotide を高収量で結晶状に単離し物理化学的に同定した。また*Streptomyces aureus* の生産する DNA 分解酵素系中にはadenylic acid deaminase も含まれているので5'-deoxyinosinic acid が生成した。著者はこの5'-deoxyinosinic acid および5'-deoxyguanylic acidは5'-inosinic acid および5'-guanylic acid と同様に呈味性があることをはじめて指摘した。

第7章では RNA を2'-(3')-mononucleotide に分解する酵素系を菌体外に生産する微生物の中から *Rhodotorula glutinis* を選び、その酵素系を検討するとともに本酵素系を使用することによって RNA より90%の収量で3'-mononucleotide を得ることを明らかにし3'-nucleotide の製造方法を確立した結果について述べている。

第8章では *Rhodotorula glutinis* の菌体内酵素系によるRNAの分解について述べている。本菌の培養の時期による菌体内の酵素系の変動を検討し、16時間培養の菌体では RNA は5'-mononucleotide に、40時間培養の菌体では5'-および3'-mononucleotide に、96時間培養の菌体では3'-mononucleotide に分解された。この事実は培養の時間によって RNA を分解する菌体中の酵素系が転換することを示している。

第9章では酵母の mononucleotide 分泌について述べている。多数の酵母について RNA の自己消化能を検討し、mononucleotide の分泌の活発なpHおよび分泌されたmononucleotide のリン酸の位置によって4群に大別しうることを指摘した。この結果にもとづき酵母の RNA の自己消化法もまた5'-mononucleotide の新しい製造法となりうる可能性を示唆した。

第 10 章は結論である。

論文審査の結果の要旨

5'-Inosinic acid がかつお節などの調味料の主成分として強い呈味力を有することは古くから知られており、また 5'-mononucleotide はリボ核酸の前駆物質でありさらに種々の補酵素成分としても重要な物質であるが、これらを大量に生産することはきわめて困難であった。これは RNA を 5'-mononucleotide に分解する phosphodiesterase が蛇毒や牛小腸粘膜の中にのみその存在が認められていたためである。また 5'-deoxymononucleotide は生化学的試薬ばかりでなく医薬としても重要な物質であるがこれらも工業的に生産することはさらに困難であった。著者はこれらの mononucleotide および deoxymononucleotide を工業的に生産することを目的として本研究を行なった。すなわちリボ核酸(RNAと略記する)およびデオキシリボ核酸(DNAと略記する)などを分解する酵素系を微生物に求め、それぞれを対応する mononucleotide に分解する酵素系が菌体外に生産される多数の微生物を見出した。これらによって 5'-mononucleotide, 5'-deoxymononucleotide および 3'-mononucleotide の工業的製造法の基礎を確立した。

さらに本研究によって微生物生化学上興味のある多数の新しい事実が見出された。すなわち *Aspergillus quercinus* は RNA を 5'-および 3'-mononucleotide に分解する酵素系を同時に菌体外に生産すること、*Rhodotorula glutinis* は培養の時期によって菌体内に生産される酵素系の転換がおこることなどは微生物の核酸代謝に関連してきわめて興味ある事実である。この結果にもとづき多数の酵母の自己消化による mononucleotide 分泌について検討しこの方法もまた 5'-mononucleotide の新しい製造法となりうることを指摘した。

さらに 5'-deoxyinosinic acid および 5'-deoxyguanylic acid が 5'-inosinic acid および 5'-guanylic acid と同様に呈味性のあることを見出し、mononucleotide の呈味性にはリン酸の結合位置と塩基の種類が重要であって、リボースの 2' の位置の OH は無関係であることをはじめて明らかにした。

以上著者の行なった研究の成果は調味料としての 5'-inosinic acid および 5'-guanylic acid の工業生産の基礎を確立したばかりでなく、微生物の核酸およびその関連物質の代謝の研究を通じて生化学に貢献するところ大である。

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。