

【302】

氏 名	松 村 親 まつ むら ちかし
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 228 号
学位授与の日付	昭 和 44 年 1 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	<i>Aspergillussaitoi</i> の生産する cellulose の分解酵素の研究

論文調査委員 (主 査)
教 授 緒 方 浩 一 教 授 満 田 久 輝 教 授 秦 忠 夫

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は *Aspergillus saitoi* の生産する cellulase についてその生産条件, 精製, 酵素の性質などに関する詳細な研究を取りまとめたものである。

著者は *Aspergillus saitoi* が他の微生物に比較して強力なセルローズ分解能を有することを見出した。本酵素の粗標品は starch electrophoresis では少なくとも5部分からなっており, また作用的にはぼうじゅんセルローズに作用する部分, carboxymethyl cellulose (CMC) に作用する部分および β -glucosidase の基質である salicin に作用する部分にわけることができる。CMC に作用する部分は酵素タンパク質の約50%, salicin に作用する部分は約40%をしめ, ぼうじゅんセルローズに作用する部分はわずかである。各酵素部分は安定性, 至適 pH が異なり, 特にぼうじゅんセルローズに作用する部分はきわめて不安定である。

Aspergillus saitoi のセルローズの分解機序としては, 培養時における菌の増殖に伴ってこれら各部分の生成の順序から, 少なくとも上記3酵素の関与のもとに高分子のセルローズから順次低分子に分解されグルコースに至ることが明らかとなった。

これらの酵素の中で比較的安定な CMC に作用する部分を Sephadex, カチオン交換樹脂, Carbowax 処理などによって精製し, cellulase としてははじめて結晶状に単離することに成功した。この結晶酵素は電気泳動的に単一タンパク質であって, ぼうじゅんセルローズやろ紙粉末, cellobiose, salicin その他には全く作用しない。最適 pH は4.5~5.0にあり最適温度は 60~70°C, 安定 pH 域は2.6~8.0で熱に対して比較的安定である。CMC の加水分解物をペーパークロマトグラフィーで経時的に検討した結果, オリゴ糖を経て cellobiose まで分解するがグルコースは生成しない。またこの酵素の作用は従来論議のあった endwise 型か random 型であるかについては random 型であることを明らかにしている。

またこの酵素は基質の重合度には大して影響されないが carboxyl 基の置換度によって左右されることが, さらに各種金属塩, その他の物質の阻害, 賦活について検討し従来知られている微生物の cellulase

と比較検討を加えた。

論文審査の結果の要旨

従来微生物の生産する cellulase については木材腐朽菌をはじめとして多くの研究があるが amylase や protease にくらべると不明な点が多く研究のおくれた分野である。その原因は基質であるセルロースの構造の複雑なこと、多種類の酵素の混合物で純粋な単一酵素として得ることが困難なことなどであり、単一タンパク質として結晶状に得られた酵素はなかった。

著者は *Aspergillus saitoi* が強力なセルロース分解能を有することを見出し、本酵素類の諸性質を解明する目的で本研究を行なった。

Cellulase の生産と培養条件については従来ほとんど報告がない。本菌の cellulase の生産では炭素源にくらべて窒素源を多量に必要とすることが特徴的であり、基質による誘導生成があることおよび培養の初期には高分子セルロースを分解する酵素を生成し、培養末期に低分子のセルロース分解物を分解する酵素が生成することを明らかにした。

特に carboxymethyl cellulose (CMC) に作用する部分を単一タンパク質として結晶状に得たことは cellulase としてははじめてであり、この酵素の酵素化学的諸性質を明確にすることができた。

以上の研究の成果は多数の酵素の混合物である cellulase のすべてを明確にしたとはいいがたいが、その大部分をしめる CMC 分解酵素を結晶状に得てその諸性質を明らかにしたことは大きな業績であり、醗酵生理学、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。