

氏 名	寺 西 豊 てらにし ゆたか
学 位 の 種 類	工 学 博 士
学 位 記 番 号	工 博 第 375 号
学位授与の日付	昭 和 49 年 5 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 respiratory and cytochemical features of n-alkane-utilizing yeasts (ノルマル・アルカン資化性酵母の呼吸及び組織化学的性質に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 福 井 三 郎 教 授 河 西 三 省 教 授 倉 田 道 夫

論 文 内 容 の 要 旨

炭化水素を発酵原料として栄養価に富む微生物菌体を生産し、これから動物飼料や良質のたん白質を製造しようという計画が世界的に注目されている。この問題に関する実用面での研究はすでに多数の報告があるが、炭化水素に生育する微生物は従来の発酵原料である糖質に生育する場合に比し細胞の面でも代謝の面でも種々の相違点があると推定されるにかかわらず、詳細な研究はほとんど行なわれていない。

本論文はノルマル・アルカンに生育する *Candida* 属酵母の呼吸とそれに関連する酵素ならびに細胞化学的特徴について研究した結果をまとめたものであって9章から成っている。

第1章は炭化水素培地によく増殖し補酵素Qやチトクロームcを高収量で生成する *Candida tropicalis* pK233が、ノルマル・アルカンと塩類および微量の天然栄養源を含む培地で、通常の酵母型細胞から変化して特異な菌糸状細胞になる現象を発見し、この二形性現象とノルマル・アルカンの鎖長、培養条件の効果について詳細に研究した経過を取り扱っている。

第2章ではグルコース培地とノルマル・アルカン培地に増殖した各種 *Candida* 属酵母の細胞壁の性質を比較検討する目的で、細胞壁溶解酵素の作用を受けてプロトプラストが形成される過程を追跡し、得られたプロトプラストのグルコースおよびノルマル・アルカンにたいする呼吸活性を調べた。その結果、*Candida lipolytica* ではノルマル・アルカン生育菌体はグルコース生育菌体に比し細胞壁溶解酵素にたいする抵抗性が著しく大きい、その他の菌株では両菌体間の差はほとんどないことが明らかにされた。

第3章では、各種 *Candida* 属酵母のノルマル・アルカン生育菌体とグルコース生育菌体との細胞表面構造を比較する目的で行なった走査型電子顕微鏡による観察の結果をまとめている。グルコース生育菌体の細胞壁表面は均質で平滑であるのに反し、ノルマル・アルカン生育菌体では多数の突起物が存在し、この突起物の存在する部位は細胞内部とつながっていることを明らかにし、ノルマル・アルカンの細胞内への取り込みに興味深い情報を与えている。

第4章ではノルマル・アルカン生育菌体とグルコース生育菌体の微細構造を電子顕微鏡で観察し、前者

に特徴的な一重膜構造を持つ微小顆粒体が多数出現することを発見している。

第5章ではノルマル・アルカン生育菌体において増殖の最盛期に見られるカタラーゼ活性の著しい増大と上記の微小顆粒体生成との関係を、組織化学的方法で調べた結果を記述している。カタラーゼ活性の局在部位の検索に用いられる3, 3'-ジアミノ・ベンジジン (DAB) 試薬で処理することにより、微小顆粒体が染色され、かつ染色の強さがカタラーゼ活性と平行することから、この微小顆粒体が「パーオキシゾーム」と定義されるものであることを証明している。この結果は酵母のノルマル・アルカン資化において、「パーオキシゾーム」に局在するカタラーゼの演じる役割に有力な示唆を与えている。

第6章では、「パーオキシゾーム」の出現、カタラーゼ活性の増大に及ぼす炭素源の効果を調べ、これらの現象はグルコース、エタノールなどでは起こらず、炭化水素の酸化に伴って誘導されるものであることを示している。

第7章では呼吸系に関与する重要な補酵素の1つであるフラビン補酵素について検討しており、炭化水素を炭素源とする場合には糖質の発酵に比し、FADが多量に生成することを明らかにしている。第8章では数種の *Candida* 属酵母におけるノルマル・アルカン生育菌体とグルコース生育菌体の呼吸鎖を比較し、電子伝達の経路が、両者において異なることを示す成績を得ている。

第9章では呼吸阻害剤にたいする挙動を、ノルマル・アルカン生育菌体とグルコース生育菌体とで比較し、特にグルコース生育菌体ではシアンにより著しく阻害されることを認め、両者の呼吸鎖の相違を裏書きしている。

論文審査の結果の要旨

炭化水素を炭素源として微生物を培養し、有用な菌体成分や代謝生産物を取得することは、発酵工業の新分野として世界的に注目されている。しかし、この領域における実用面に関する多数の研究はあるが、炭化水素を利用して増殖する微生物の細胞構造や代謝経路とくに呼吸系機能が糖質に生育する場合と異なることが予想されるにもかかわらず、従来見るべき成果が乏しかった。本論文はノルマル・アルカンに増殖する *Candida* 属酵母の呼吸に関する研究と、電子顕微鏡による細胞微細構造を取り扱ったもので、次のような成果をあげている。

(1) 炭化水素の発酵による補酵素Qやチトクロームの生産に利用しうる *Candida tropicalis* pK 233 など数種の *Candida* 属酵母がグルコース培地では通常の酵母型細胞を示すのに、中程度の鎖長のノルマル・アルカン炭素源とする培地では菌糸状細胞として発育する現象を発見し、ノルマル・アルカンがこの二種類の酵母の二形性発現の原因となることを示した。

(2) 各種の *Candida* 属酵母の細胞壁が *Arthrobacter* 属細菌の細胞壁溶解酵素で溶解除去されてプロトプラストを形成する過程を追跡し、得られたプロトプラストと完全な菌体とを比較しつつ、グルコースとノルマル・アルカンにたいする呼吸能を詳細に調べた。その結果、これらの酵母におけるノルマル・アルカン酸化基質とした場合の呼吸系がグルコースの場合と異なることを、呼吸阻害剤の作用、呼吸系に関与する電子伝達因子の分光学的研究より明らかにした。

(3) ノルマル・アルカンに生育中の *Candida* 属酵母で、カタラーゼ活性が高く、特に増殖の最盛期に

著しい上昇が見られることを明らかにした。これに関連して、電子顕微鏡観察によりノルマル・アルカン生育菌体の細胞質内に、グルコース生育菌体にはほとんど見られない一重膜構造の微小顆粒体の著しい出現を発見し、組織化学的手法によりカタラーゼ活性がこの顆粒体中に局在することを証明した。即ち、この顆粒体は種々の酸化酵素とそれに共役するカタラーゼを含むパーオキシゾームと定義されるものであり、パーオキシゾームが *Candida* 属酵母のノルマル・アルカン代謝に重要な役割を演じる可能性を強く示唆する結果である。

(4) ノルマル・アルカンに生育中の *Candida* 属酵母の細胞表面に、特異な突起点が点在することを走査型電子顕微鏡による観察で発見し、ノルマル・アルカンの菌体内への取り込みの機構に関する興味深い情報を与えた。

以上を要するに本論文は、ノルマル・アルカンを利用して増殖する酵母の細胞構造と機能、呼吸系に関し、種々の新らしく興味深い事実を明らかにしたものであり、理論面ならびに応用面に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。