

|         |                                                                                                                                            |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名     | 江 井 仁<br>えね い ひとし                                                                                                                          |
| 学位の種類   | 農 学 博 士                                                                                                                                    |
| 学位記番号   | 論 農 博 第 445 号                                                                                                                              |
| 学位授与の日付 | 昭 和 48 年 3 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  | <b>MICROBIOLOGICAL SYNTHESIS OF L-TYROSINE<br/>AND 3, 4-DIHYDROXYPHENYL-L-ALANINE</b><br>(L- チロシンならびに3, 4—ジヒドロオキシフェニル -L- アラ<br>ニンの微生物的合成) |
| 論文調査委員  | (主 査)<br>教 授 緒 方 浩 一    教 授 深 海   浩    教 授 山 田 秀 明                                                                                         |

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は微生物の生産する tyrosine phenol lyase ( $\beta$ -tyrosinase, TYRase) の酵素化学的諸性質を明らかにするとともに本酵素の合成および置換の性質を利用して L-tyrosine および 3, 4-dihydroxyphenyl-L-alanine (L-DOPA) の工業的生産の基礎的研究を行なったものである。

まず本酵素の微生物における分布を調べ、保存菌株1,041株、自然界から分離した1,520株について検討したところ *Enterobacteriaceae* に広く分布していることを認めた。特に活性の高い *Erwinia herbicola* を本研究の対象として選んだ。

*E. herbicola* を L-tyrosine を含む培地で培養した菌体から本酵素を抽出精製し結晶状に得た。この結晶酵素を用いて詳細な酵素化学的諸性質を明らかにし L-tyrosine, L-DOPA の分解、合成、置換、光学的不活性化などについて明確にした。

この知見に基づいて、生菌体を用いてこれらの反応を行なわせるために詳細な培養条件、反応条件に検討を加えた。その結果生菌体を用いて各種のアミノ酸と phenol または pyrocatechol との置換反応を行なわせると L(D)-serine, L-cysteine, L-cystine, L-DOPA, L(D)-tyrosine および S-methyl-L-cysteine から L-tyrosine または L-DOPA が生成した。

さらに高濃度のアンモニウムイオンの存在下に L-tyrosine, L-DOPA の合成分解反応を検討したところ、反応の平衡は pyruvate および phenol または pyrocatechol からの L-tyrosine または L-DOPA の合成方向に傾いていることが認められた。よって合成反応の基質である pyruvate および phenol または pyrocatechol の濃度をつねに合成反応速度を最高に保つように feed 法によって反応を行なわせると 6.05 g/100 ml の L-tyrosine, 5.86 g/100 ml の L-DOPA が生成された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

生理的に重要なアミノ酸である L-tyrosine および老人病に使用されている 3, 4-dihydroxyphenyl-L-

alanine (L-DOPA) は植物組織およびその加水分解物からの抽出法によるか、複雑な化学的合成法によって生産されてきた。

著者は微生物の生産する tyrosine phenol lyase ( $\beta$ -tyrosinase, TYRase) が多機能酵素であることに着目し、本酵素を用いて L-tyrosine および L-DOPA を生産する目的で本研究を行なった。

まず約 2,500 株におよぶ細菌、かび、酵母および放線菌の中から特に本酵素活性の強い *Erwinia herbi-*  
*cola* を選び、本菌の菌体から TYRase をアポ酵素として結晶状に得た。本酵素のアポ酵素は 1 分子当り 2 分子の pyridoxal phosphate とともにホロ酵素を形成することおよび L-tyrosine, L-DOPA の分解、合成、置換、光学的不活性化などについて詳細な検討を加えた。

これらの知見に基づき生菌体をそのまま酵素源として合成反応を行なわせるための培養条件、反応条件を追求した。適当な条件を選ぶことによって生菌体および高濃度のアンモニウムイオンの存在下に pyruvate と phenol からは 6.05 g/100 ml の L-tyrosine が、pyruvate と pyrocatechol からは 5.86 g/100 ml の L-DOPA が得られた。この数値はそれぞれの水に対する溶解度をはるかに越えており、反応中に結晶として析出する。

以上のように本論文は L-tyrosine, L-DOPA の工業的生産の基礎を確立し、またアミノ酸の全く新しい生産方式を開拓したもので微生物生産学、醗酵生理学ならびに微生物産業に寄与するところがきわめて大きい。

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。