

氏 名	土 佐 哲 也
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 188 号
学位授与の日付	昭 和 43 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	連続酵素反応に関する研究 —水不溶性アシラーゼを用いるアミノ酸の連続光学分割について—

論文調査委員 (主 査) 教授 満田久輝 教授 小野寺 幸之進 教授 森田雄平

論 文 内 容 の 要 旨

一般に工業生産過程に酵素を利用する場合は、通常いわゆる溶液状態で行なわれている。そのため、酵素標品の回収不能、酵素の変性、基質あるいは生成物阻害などによる反応速度の低下および反応生成物分離の複雑性をともなうことが多い。

著者は酵素をある種の支持体に結合せしめ、不溶性の状態とするときは、上記の欠点を解消することが可能であるのみならず、反応を連続的に行なうこともでき、酵素の工業的利用上非常に有利であると考え、まず各種イオン交換樹脂、活性アルミナ、シリカゲル、活性炭、Cellulose 誘導体、Sephadex 誘導体などを支持体として、酵素活性を有する不溶性アシラーゼの調製法を検討している。その結果、たとえば DEAE-Sephadex のような塩基性の支持体にアシラーゼをイオン結合させることにより、よくその目的を達成している。

このような不溶性酵素を充てんしたカラムに基質としてアセチル-DL-メチオニン溶液を注入すると、流出液中に L-メチオニンが生成し、その生成量は流出速度に支配される。流出液中には酵素タンパク質、色素などの不純物は全く含まれないので、反応生成物としての L-アミノ酸とアシル-D-アミノ酸は簡単な操作により高収率で分取することができる。

また DEAE-Sephadex-アシラーゼ・カラムの安定性を詳細に検討している一方、工業的な規模で連続酵素反応を行なうには、カラムを scale up することが必要であるが、この場合の動力学的研究も重ねている。このような不溶性酵素は一種の modified enzyme と考えられるので、酵素化学的諸性質を調べ、正常なアシラーゼと比較している。その結果、金属イオンおよび阻害剤の影響、数種の基質に対する不溶性酵素の至適水素イオン濃度などについては、両酵素標品の間に大きな差異は認められないが、温度に対して顕著な相違を実証している。すなわち不溶性酵素は著しく熱安定性が増大している。この性質は本法を工業生産に利用する上に大きな利点の一つとなっている。

論文審査の結果の要旨

本研究は酵素を支持体に結合せしめ、基質と連続的に反応を行なうために、不溶性酵素調製用支持体の検索、酵素標品の力価の高いカラムの調製、アシル-DL-アミノ酸の連続分割を行なうための反応温度、基質濃度、 Co^{++} 濃度、反応水素イオン濃度、流出速度および基質特異性について検討している。

Aspergillus oryzae 抽出液から得られるアシラーゼを、たとえば DEAE-Sephadex カラムに吸着せしめ、基質としてアセチル-DL-メチオニン溶液を 50°C にて32日間連続的に分割したところ、なお調製直後の60%以上の力価を保持している。また、このような力価の低下したアシラーゼ・カラムに、力価の低下に相当するだけのアシラーゼをあらたに添加することにより、はじめと同等の力価を有するカラムが得られ、繰り返し使用することができることを実証している。その結果、従来のアシラーゼ溶液を用いる batch 法に比べて、カラム法の場合には少量の酵素で、大量のアシル-DL-アミノ酸を光学的に分割できる。

本論文は酵素化学の領域において、きわめて画期的な着想のもとに開拓された研究であり、詳細な基礎実験をもとにして応用面に多大の貢献をしているすぐれた業績であり、学界、産業界において高く評価されている。

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。