



Title	甘藷 (<i>Ipomoea batatas</i>) β -アミラーゼに関する研究
Author(s)	竹田, 靖史
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30839
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	竹 田 靖 史
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	第 2664 号
学位授与の日付	昭和47年11月20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	甘藷(<i>Ipomoea batatas</i>) β -アミラーゼに関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 弘輔
	(副査) 教授 芝崎 勲 教授 原田 篤也 教授 田口 久治

論文内容の要旨

甘藷 β -アミラーゼの構造とその性質について研究した。

第1章では、甘藷 β -アミラーゼを容易に純化する方法を確立した。甘藷を除皮し、搾汁後、汁液を遠心分離し、上澄液を酸処理した後、アセトン分画(I)、硫安分画、次いで二度アセトン分画(II、III)し、得た沈澱を室温の純水に溶解し、氷冷することによって板状の結晶酵素を得た。以上約6時間の操作で甘藷1.7kgから60mgの結晶酵素が得られた。結晶酵素は1580units/mg(37°C)の比活性を示し、ディスク電気泳動的に単一であった。

第2章では、本酵素のサブユニット構造について研究した。

Dinitrophenyl化による酵素のN-末端の検索と定量の結果、分子量は57200で、N-末端アミノ酸はアラニンであることを示した。ドデシル硫酸ソーダ(SDS)ポリアクリルアミド電気泳動法(SDS電気泳動)によっても、その分量は56200とN-末端基からの測定値とよく一致した値を得た。ここに超遠心法による本酵素の分子量は156200~215000と報告されている事実と合せて、本酵素は3~4個のサブユニットからなることが明らかになった。

第3章では、SDSによる本酵素の構造変化をゲル濾過法とゲル電気泳動法により調べた。本酵素はSDSの処理によって変性すると、単量体に解離し、生じた単量体は2量体などの一連の重合体を形成すること、また、その重合体はメルカプトエタノールの存在下で、SDS電気泳動すると、すべて単量体になることを認めた。これらの事実から、本酵素は変性すると、分子中のSH基により重合し易いことを示唆した。

第4章では、Triton X-100(非イオン系界面活性剤)が本酵素の顯著な性質である高度の希釈による失活を防ぎ、かつ失活した酵素を可逆的に回復させる効果のあることを見出し、その効果の本質を究明した。Triton X-100は本酵素の作用最適pH、澱粉に対するKm、及び酵素分子内に埋れた状態

で存在する S H 基になんらの変化を与えないが、酵素の希釀による失活や、熱及び S D S による失活を防ぐのに有効であった。Triton X -100 と同様の効果を示す物質を多数検索した結果、蛋白質や合成高分子などにも同様の効果が認められた、ここで、ポリエチレングリコールの重合体では高度に重合したもの程、効果が著しいことが認められ、Triton X -100 はそれ自体低分子であるが、限界ミセル濃度以上で、この効果が最大になることと合わせて、Triton X -100 はミセルの状態で有効であると考察した。クロマトグラフによる研究から失活した酵素は、活性な酵素より多少とも広がった構造をとるか、サブユニットが解離した状態にあり、Triton X -100 はこの失活した酵素を自然の密に折りたたまつた構造に戻す作用のあることを見出した。これらの事実から、Triton X -100 は本酵素の自然の折りたたまつた構造の保持に役立つものと結論した。

論文の審査結果の要旨

本論文は *Ipomoea batatas* の β -amylase の結晶を簡単な方法により大量に得る方法を開発し、得られた結晶を用いて β -amylase の立体構造と酵素の安定性、酵素活性の関係を論じたものである。特に新しい精製法においては従来の方法が数日ないし十数日を要したのに較べて 6 時間以内に短縮でき、その結果不活性化蛋白質の混入を極度に回避することに成功している。

本酵素は subunit 構造をもつ四量体酵素であることを推定している。すなわち N - 末端アミノ酸アラニンの定量、および S D S 電気泳動の結果から得られる単量体の分子量はそれぞれ 57200 と 56200 であることを明らかにし、既知の分子量と比較することによって推定した。さらに酵素蛋白分子中の S H 基が活性に関与している事実をも究明している。

Ipomoea batatas の β -amylase は希釀溶液中では極度に不安定になる現象を解明し、酵素蛋白質の立体構造の変化または四量体より単量体への解離がその原因であり、これを防止する試薬としては Triton X -100 polyethyleneglycol や蛋白質が有効であることを認めた。以上の結果は酵素化学ならびに食糧工学上貢献するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。