

Title	酵素的フェノール酸化反応を利用した有用物質合成と各種酵素活性測定法の開発
Author(s)	上松, 仁
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3108036
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	おが まつ ひとし 上 松 仁
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 1 0 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 1 0 月 4 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	酵 素 的 フェノール酸化反応を利用した有用物質合成と各種酵素活性測定法の開発
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 今 中 忠 行 教 授 大 嶋 泰 治 教 授 小 林 昭 雄 教 授 吉 田 敏 臣 教 授 山 田 靖 宙 教 授 卜 部 格 教 授 二 井 将 光 教 授 菅 健 一 教 授 塩 谷 捨 明

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、酸化酵素によるフェノール酸化反応を酵素合成および酵素変換に利用すると共に、酸化酵素の潜在酵素機能を明らかにして新たな酵素機能の開発を行ったものである。

緒論では、本研究の目的と意義、およびその背景について述べるとともに、本研究の概略を示している。

第1章では、2量体の酵素合成のモデル化合物とペニシリンX (PcX) を選び、酸化酵素として *Coriolus versicolor* (カワラタケ) 由来のラッカーゼを用い、PcXのメチルエステル体をラッカーゼ水溶液と有機溶媒の2相系で反応させることによって効率的に4種類の2量体を酵素合成することに成功した。更に、2量体の構造決定を行いその生成機構についての考察を行っている。

第2章では、他の β -ラクタム系抗生物質を水溶液中でラッカーゼを用いて酵素変換を行い、スピローエポキシド構造体、脱炭酸反応産物が生じることを示し、得られた変換物の抗菌力について検討している。

第3章では、先の脱炭酸反応に注目し、カルボキシル基を有する種々のフェノール化合物をラッカーゼの基質とし単一の生成物が生じる反応の探索を行い、2-(4-ヒドロキシフェニル)グリシン (HPG) と4-ヒドロキシマンデル酸が、単一の生成物として4-ヒドロキシベンズアルデヒド (HBA) に変換される酸化的脱炭酸反応を発見している。更に、ビリルビンオキシダーゼとセルロプラスミンでも同様の脱炭酸反応を確認し、この脱炭酸反応経路について考察を行っている。また、脱炭酸反応を用いた酸化酵素の活性測定法を提案している。

第4章では、HPGが α -アミノ酸であることから、酸化酵素の脱炭酸反応によるHPGのHBAへの変換とその発色定量を用いて血清中のペプチダーゼの活性測定法の開発を行っている。アミノペプチダーゼとしてはアリルアミダーゼとロイシニアミノペプチダーゼの活性測定法の開発を行い、L-Leu-L-HPGを基質としラッカーゼを共役酵素とすることによって両酵素活性を測定できることを証明している。カルボキシペプチダーゼとしてはアンジオテンシンI変換酵素 (ACE) の活性測定法の開発を行い、N-Bz-L-HPG-L-His-L-Leuを基質としビリルビンオキシダーゼを共役酵素とすることによって従来法より簡便にACEの酵素活性を測定できることを証明している。

総括と展望では、以上の結果を要約し総括すると共に将来展望を述べている。

論文審査の結果の要旨

本論文は、天然物の生合成において炭素-炭素結合を形成する反応である酵素的フェノール酸化反応に着目し、酸化酵素によるフェノール酸化反応を有用物質の酵素合成および酵素変換に利用すると共に、さらに、酸化酵素の潜在機能を明らかにして新たな酵素機能の開発を行ったものである。そして、酵素的フェノール酸化反応の酵素合成法および酵素変換法における有用性を示すと共に、酸化酵素を用いた血清中の酵素活性測定法の開発に成功している。

これらの成果を要約すると以下ようになる。

- (1) ペニシリンXの2量体をラッカーゼを用いて酵素合成し、生成した種々の2量体の化学構造を明らかにしてそれらの生成機構の考察を行い、酵素的フェノール酸化反応が生成物が予測可能な反応であることを明らかにしている。
- (2) ペニシリンXの酵素的2量体および他のフェノール部分を有する β -ラクタム抗生物質の酵素変換実験から、酸化酵素によるフェノール酸化反応は基質特異性が広く、酵素合成法および酵素変換法において一般性のある方法になりうる反応であることを考察している。
- (3) 酸化酵素の潜在的機能として単一の生成物が生じる反応を発見し、化学量論的実験および反応速度に与えるpHの影響からその反応経路の考察を行い、この反応が酸化的脱炭酸反応であることを明らかにしている。さらに、この反応を用いた酸化酵素の活性測定法を提案している。
- (4) 先に発見した酸化酵素の酸化的脱炭酸反応を共役反応とするアミノペプチダーゼおよびアンジオテンシンI変換酵素の活性測定法の開発を行い、従来の測定法の問題点を解決した優れた活性測定法の開発に成功している。

以上のように、本論文は酵素的フェノール酸化反応の酸化合成および酵素変換における有用性を示し、さらに、酸化酵素の潜在機能を明らかにしてそれを用いた各種酵素活性測定法を開発したことから、醗酵工学に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。