OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	アミノ酸の製造における酵素の利用に関する研究 : L-Aspartate β-DecarboxylaseとL-Histidine Ammonia-Lyaseの利用
Author(s)	柴谷, 武爾
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31393
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【50】

氏名・(本籍)	柴谷武爾 (しばたにたけじ)
学位の種類	工学博士
学位記番号	第3516号
学位授与の日付	昭和51年2月27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	アミノ酸の製造における酵素の利用に関する研究 —L-Aspartate β-Decarboxylase と L-Histidine Ammonia - Lyase の利用—
論文審査委員	(主査) 教授 岡田弘輔 (副査) 教授 原田篤也　教授 芝崎勲

論文内容の要旨

本論文は酵素法によりL—アミノ酸並びにその関連物質を製造する方法を確立し，かつそれらの製造に必要な基礎資料を得ることを目的として検討したものであり6章から成っている。

緒論においてはL—aspartate β—decarboxylase と L—histidine ammonia—lyase について従来の研究成果を要約した。

第1章においてはL—アスパラギン酸からL—アラニンの工業生産に用いている *Pseudomonas dacunhae* の L—aspartate β—decarboxylase を精製，結晶化し，その沈降定数，拡散定数，分子量，偏比容，摩擦係数比，軸比などの物理化学的性質について種々検討して本酵素の分子形態を解明した。

第2章においては本酵素のサブユニット構造を知るために末端分析，SH分析，変性剤存在下での超遠心分析などを行なった。本酵素は分子量 50,000 の同一 polypeptide chain 16個より成り，各2本の polypeptide chain が S—S 結合により会合して分子量 100,000 のサブユニットを形成し，このサブユニット4個にて分子量 400,000 の中間的な大きさの酵素となり，さらにこれが2つ会合して native な酵素となっていることを明らかにした。

第3章においては従来未解決であった本酵素のα—ケト酸による活性化機構を解明し，本酵素がα—ケト酸およびピリドキサール燐酸を activator とするアロステリック蛋白であることを反応動力学，蛍光分析，脱感作実験などにより証明した。

第4章においては本酵素がL—型アミノ酸にのみ特異的に作用することを利用してDL—アスパラギン酸からD—アスパラギン酸とL—アラニンの同時製造法を確立した。

第5章においては微生物の L—histidine ammonia—lyase を用いてL—ヒスチジンからウロカニン酸

の生成を研究した。優良菌株として *Achromobacter liquidum* を見出し，本菌による該酵素生産条件について検討し，高い酵素活性を示す培養液を用いて高濃度L－ヒスチジンからウロカニン酸への酵素的転換条件について検討し，ウロカニン酸の工業的製造法を確立した。

第6章においては *A. liquidum* より L—histidine ammonia—lyase を精製，結晶化し，種々の酵素化学的性質を動物並びに他の微生物のそれと比較した。

論文の審査結果の要旨

本論文は酵素法によるL－アラニンとウロカニン酸の製法と，関与する酵素を生化学的に研究したものである。

まず *Pseudomonas dacunhae* の L—aspartate β—decarboxy lase を結晶まで精製し，その諸性質を明らかにしている。本酵素は分子量 50,000 の subunit 16分子が disulfide 結合により分子量 800,000 の apoenzyme を形成し，さらに16分子のピリドキサール燐酸が結合して holoenzyme となったもので，摩擦係数比から分子の細長い形状を推定している。また本酵素はα－ケト酸と PLP を allosteric activator とする酵素で km 値の変化と分子表面のトリプトファン残基数に変化が生じることを示した。

本酵素を用いる DL －アスパラギン酸から定量的にD－アスパラギン酸とL－アラニンに転換する製造法を開発し，さらに 90% の収率で両者の分離に成功している。

次いで *Achromobacter liquidum* を用いるL－ヒスチヂンからのウロカニン酸の製造法，DL－ヒスチジンからD－ヒスチジンとウロカニン酸の製造法を開発している。前者の方法では 0.5M のL－ヒスチジンから 40℃, 48時間の反応で定量的にウロカニン酸が生成し，等電点沈澱法により 90%の収率で結晶として単離できた。

この反応に関与する酵素 L—histidine ammonia—lyase を *A. liquidum* から結晶状に分離し，分子量 200,000, EDTA によって阻害され，Mn, Co, Zn, Ni, Mg や Ca によって活性化される酵素であることを明らかにしている。

本論文で開発された製法はすでに工業化されており，その酵素化学的基礎とも酵素工学および酵素化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。