



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 酵素の固定化および固定化酵素触媒反応の速度論に関する研究                                                                                                                                                                                                                                         |
| Author(s)    | 宮本, 和久                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Citation     | 大阪大学, 1978, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/32252">https://hdl.handle.net/11094/32252</a>                                                                                                                                                                                  |
| 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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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

|             |                                                                 |
|-------------|-----------------------------------------------------------------|
| 氏 名 ・ (本籍)  | 宮 <sup>みや</sup> 本 <sup>もと</sup> 和 <sup>かず</sup> 久 <sup>ひさ</sup> |
| 学 位 の 種 類   | 工 学 博 士                                                         |
| 学 位 記 番 号   | 第 4 3 2 2 号                                                     |
| 学位授与の日付     | 昭 和 53 年 5 月 1 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 | 酵素の固定化および固定化酵素触媒反応の速度論に関する研究                                    |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査)<br>教 授 田 口 久 治                                             |
|             | 教 授 合 葉 修 一 教 授 岡 田 弘 輔 教 授 三 浦 喜 温                             |

## 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、工業触媒としてその応用が拡大しつつある固定化酵素の速度論的特性の解析と固定化時における酵素活性低下の要因の解明によって、一層すぐれた固定化酵素の開発に資するために行った研究結果をまとめたものであり、緒論、本文 5 章および総括からなっている。

緒論では、固定化酵素の研究史を略述し、工業的応用にあたっての問題点を指摘している。

第 1 章では、工業触媒としての利用に適した方法である物理吸着法またはイオン結合法による酵素の固定化について述べている。固定化前後の酵素活性比と担体の結合能とを指標とする担体選定方法を示し、この方法を glucose oxidase および glucoamylase の固定化に適用し、前者の担体として活性炭および Amberlite CG-50 がすぐれていること、glucoamylase の固定化には、Amberlite CG-50 が最適であることを見い出している。

第 2 章では、Amberlite CG-50 を担体とする固定化 glucoamylase の活性についてさらに詳細な検討を加えており、Amberlite の粒径によって酵素活性および反応のみかけの活性化エネルギーが変化する現象を見出し、本固定化酵素における活性低下の一要因として、粒子内拡散抵抗が関与していることを明らかにしている。

第 3 章では、固定化 glucoamylase の熱安定性および連続反応における安定性を検討している。また、本系に対応する反応モデルを設定し、独立に実測した速度パラメーターを用いて触媒有効係数を求め、この有効係数によって、マルトース加水分解反応速度に対する固定化酵素の粒径および基質濃度の影響をよく説明しうることを明らかにしている。

第 4 章では、複数酵素の固定化法に関する基礎的知見を得るために、アクリルアミド包括法固定化

に伴う hexokinase および glucose-6-phosphate dehydrogenase の活性低下の要因を追求している。その結果、アクリルアミドモノマーそのものの作用が固定化時にこれらの酵素を失活させることを指摘して hexokinase に対してはグルコースを、G-6-PDH には  $\text{NADP}^+$  を固定化時における重合液に添加することにより活性収率を約 2 倍に高め得ることを見い出している。

第 5 章では、複合酵素の固定化方式と目的物質の反応収率との関係を解析的に検討するとともに、混在酵素による副反応の影響、中間生成物の安定性および担体内有効拡散係数の影響等について定量的な検討を行い、すべての酵素を同一担体に包括する場合の有利性を生ずる反応系を指摘している。

総括では、本研究で得られた諸成果を要約している。

## 論文の審査結果の要旨

本論文は単一酵素及び複合酵素を用いて効率の良い固定化法と固定化酵素の操作条件を探索するために、固体触媒としての反応速度と物質移動との関係を中心に解析を展開したもので次のような知見を得ている。

- 1) 固定化前後の活性比および担体と酵素の結合能を指標として担体の選定を行うことを提案し、例えば glucoamylase の固定化にはアンバーライト CG-50 が最適である。
- 2) 固定化担体の粒子径の影響を検討し、固定化酵素の活性低下の主要因は粒子内拡散抵抗である。
- 3) 固定化 glucoamylase の触媒有効係数と Thiele モジュラスの関係を求め、モジュラスの値が大きい場合、基質濃度の高い場合には Michaelis-Menten 式の適用が困難となる。また、固定化酵素反応の温度依存性は容積当りの反応速度係数の変化に基づく。
- 4) アクリルアミド包括法による酵素固定化時において、hexokinase に対してはグルコースが、glucose-6-phosphate dehydrogenase には酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸の添加が酵素活性の低下を軽減する。
- 5) 複合酵素を同一担体に包括する場合の反応収率と別個に包括して反応器内に設置する場合の反応収率との比較を直鎖反応である hexokinase と glucose-6-phosphate dehydrogenase の系を例として実験的、理論的に解析し、同一担体内に包括させることの有利性を明白にしている。さらに酵素的、非酵素的分岐反応をとともなう系についても理論的解析を行い、同一担体に包括せしめて有利性を生ずる反応系を指摘した。

以上の成果は、酵素固定化技術の向上に貢献するとともに固定化酵素の反応速度、反応収率を解析するための理論的手がかりと指針を与えており生物化学工学の発展に寄与するところが多い。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。