



Title	高分子化NADPの合成とその酵素リアクターへの応用
Author(s)	奥田, 恵子
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35559
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

氏名・（本籍）	おく	だ	けい	こ
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	7325	号	
学位授与の日付	昭和61年4月22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	高分子化NADPの合成とその酵素リアクターへの応用			
論文審査委員	(主査)			
	教授 岡田 弘輔			
	教授 合葉 修一	教授 大嶋 泰治	教授 田口 久治	
	教授 二井 将光	教授 山田 靖宙		

論文内容の要旨

本研究は酸化還元酵素反応をバイオリアクターなどに利用するために、NADPの高分子化を検討し、酵素リアクターへの応用を試みたものである。

第1章では、高分子化の過程を(1)プロピオラクトンを用いてNADPの官能基（カルボキシエチル基）を導入する過程と、(2)カルボジイミドを用いて末端にアミノ基をもつポリエチレングリコール誘導体と結合させる過程に分けて検討している。(1)では、2'位のりん酸基がカルボキシエチル化された誘導体(I)、アデニン環6位のアミノ基がカルボキシエチル化された誘導体(II)、と両方がカルボキシエチル化された誘導体(III)が得られている。(2)ではモデル反応として1,2-ジアミノエタンを誘導体、I、II、IIIに縮合させ、誘導体IV、V、VIを合成したが、誘導体Vでは2'位のりん酸基の50%が3'位に転移することを見出している。

第2章では合成した誘導体の補酵素活性について検討している。2'位のりん酸基がアルキル化した誘導体が酵素の種類によって特徴ある補酵素活性の傾向を示したが、一般に著しい活性低下が認められた。これに対して6位のアミノ基をアルキル化した誘導体は一部例外を除いて60%以上の良好な補酵素活性を示した。

第3章では以上の知見にもとづいて、2'位にりん酸基をもち、6位のアミノ基にポリエチレングリコールを結合させた高分子化NADPの新しい合成法を考案し、合成された高分子化NADPが広範囲の酵素に高い補酵素活性を有するものであることを示している。

第4章では合成された高分子化NADPをグルコース-6-りん酸脱水素酵素、グルタミン酸脱水素酵素とともに限外ろ過膜を装着した反応容器内に閉じこめ、基質としてグルコース-6-りん酸と2-

ケトグルタル酸を連続的に供給して連続反応を行っている。本研究で合成された高分子化NADPが2基質2酵素の連続反応系で補酵素として有用であることを証明している。

論文の審査結果の要旨

NADやNADPのような担体型補酵素を必要とする酵素反応を連続化するためには、補酵素の再生系を組み込むと同時に、補酵素を高い活性を有したまま高分子化する必要がある。NADでは高活性の高分子化物が合成されているにもかかわらずNADPでは成功していなかった。本論文ではNAD高分子化の手法を適用した場合にNADPの補酵素活性が低下する原因を追求し、その成果を用いて新しいNADP高分子化法を開発したものである。得られた高分子化NADPは高い補酵素活性を有し、酵素リアクター中で連続反応に使用できることを証明しており、次のような重要な発見を含んでいる。

- (1) プロピオラクトンでNADPをアルキル化するとNADPのアデニン環の1位がカルボキシエチル化される他にリボースの2'位のりん酸基がアルキル化されること、および2'位のりん酸がアルキル化された誘導体は補酵素活性が著しく低下する。
- (2) NADPのリボース2'位のりん酸はカルボジイミドの存在下で容易に2', 3'-環状りん酸エステルを形成し、加水分解により2'-りん酸エステルと3'-りん酸エステルを半量ずつ形成すること、および2', 3'-環状りん酸エステルと3'-りん酸誘導体は活性が低いことを明らかにした。
- (3) 2'位にりん酸基をもちアデニン環6位のアミノ基にポリエチレングリコールを結合させた高分子化NADP合成法を開発し、このものが広範囲の脱水酵素に対して高い補酵素活性を示すことを明らかにした。

以上のように本論文はNADPの高分子化の手法を確立したものであり、酵素工学進歩に寄与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。