



Title	微生物の生産するプロトペクチン可溶化酵素に関する研究
Author(s)	吉武, 志信
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38570
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 よし 吉 たけ 武 し 志 のぶ 信

博士の専攻分野の名称 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 第 1 1 1 4 7 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 6 年 3 月 1 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 微生物の生産するプロトペクチン可溶化酵素に関する研究

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 近 藤 雅 臣

(副査)
教 授 三 村 務 教 授 三 浦 喜 温 教 授 西 原 力

論 文 内 容 の 要 旨

ペクチンは、ポリガラクトuron酸とそのメチルエステルを主要構成成分とし、他にアラビノース、ガラクトース、ラムノース、キシロース等の中性糖を含んだ複合多糖類である。天然には植物組織中の細胞壁成分として不溶性のゲル状で細胞どうしを互いに粘着させる物質として存在しており、一般にプロトペクチンと呼んでいる。従来、ペクチンは食物繊維の一種としてジャムやゼリー等の食品に利用されていたものの栄養学的には余り重要視されていなかった。しかし、Burkitt らが食物繊維の摂取不足と成人病（虚血性心疾患、糖尿病、肥満症等）の発生頻度に密接な関連があるとの報告をして以来、生体におけるペクチンの作用について多くの知見が得られてきた。すなわち、消化管内でのグルコースやアミノ酸、コレステロール等の吸収抑制、胆汁酸の吸収抑制、食物の胃排出遅延等による急激な血糖値の上昇抑制作用や、血清コレステロール低下作用、胆石形成抑制と既に形成した胆石退化作用、有害な重金属である鉛の腎排泄能の増大による血中濃度低下作用等が報告され、ペクチンが今後成人病予防としての医薬品への応用や日常の食生活のバランスを保つ機能性食品としての利用等その重要性は増している。

著者はこのように有用性の高いペクチンを得る目的で、植物組織中に多く存在するプロトペクチンから水に可溶で高分子のペクチンを遊離させる酵素であるプロトペクチン可溶化酵素（以下、プロトペクチナーゼと呼ぶ）を微生物から求め、この酵素の精製を行い、その性質や作用機構、遊離したペクチンの性質等の検討を加えた。

Kluyveromyces 属の酵母である *K. fragilis* IFO 0288, *K. wickerhamii* IFO 1675 及び天然よりスクリーニングして得た *Galactomyces reessii* L が菌体外に生産するプロトペクチナーゼを精製し、それぞれ結晶標品を得、それらの性質を比較した。これらの酵素はエンドポリガラクトuronナーゼの一種であった。*K. fragilis* の生産する酵素（以下、F 酵素と呼ぶ）の分子量はゲルクロマトグラフィーで 33,000、超遠心分析では 32,000、*K. wickerhamii* の生産する酵素（以下、W 酵素と呼ぶ）は SDS 電気泳動で 40,000、ゲルクロマトグラフィーでは 35,000、*G. reessii* L が生産する酵素（以下、L 酵素と呼ぶ）は SDS 電気泳動で 40,000、ゲルクロマトグラフィーで 30,000、超遠心分析では 29,300 であった。沈降定数はそれぞれ 3.77 S, 2.10 S, 2.99 S、等電点は F 酵素が pI 5.9、W 酵素が pI 5.2、L 酵素が pI 8.4～8.5 であった。アミノ酸組成を調べたところ、各酵素ともよく似た組成比を示した。また、これらは糖を含んでおり、F 酵素及び W 酵素はヘキソースとしてそれぞれ 3.2%、2.4% 含有し、L 酵素はペントースとして 2.6% の糖を含有していた。免疫学的な検討を W 酵素のモノクローナル抗体を用いて行った。L 酵素とは抗体はどれも反応を示さなかったが、F 酵素に対しては一部の抗体が反応し、共通の抗原決定部位を有していることが明らかになった。

これらのプロトペクチナーゼがミカン外果皮のプロトペクチンに作用して抽出されてきたペクチンの性質は、ガラクトシュロン酸含量が高く、さらにメチルエステル化率の高い、分子量の大きなペクチンであり、市販のペクチンに比べても同等かそれ以上の品質の高いものであった。

この酵素がなぜ高分子の水溶性ペクチンをプロトペクチンから遊離してくるのか検討したところ、プロトペクチナーゼは、ポリガラクトシュロン酸をエンド型に切断する酵素でガラクトシュロン酸オリゴマーに対する分解様式が酵素によって僅かに違いが認められたが、ガラクトシュロン酸トリマーをダイマーとモノマーにまで分解することが明らかになったが、メチルエステル化率の高いペクチンには作用しにくくなることも明らかになった。これらのことからプロトペクチナーゼが高分子のペクチンを遊離するのは、プロトペクチン中の限定されたガラクトシュロン酸鎖、少なくともガラクトシュロン酸が連続して3～4分子以上結合した箇所にはしか作用せず、ここを切断された断片はメチルエステル化率が更に高まり、プロトペクチナーゼによる再分解が起こりにくく、結果的に高分子でメチルエステル化率の高いペクチンが残されてくるのではないかと考えられた。

論文審査の結果の要旨

Kluyeromyces fragilis IFO 0288, *K. wickerhamii* IFO 1675 及び *Galactomyces reessii* L から新しいプロトペクチナーゼを結晶として精製し、これらが一種のエンドポリガラクトシュロナーゼであることを明らかにした。また、これらの酵素のミカン外果皮に対する作用機構について検討し、ガラクトシュロン酸が連続して3～4分子以上結合した箇所に作用し、メチルエステル化したガラクトシュロン酸鎖には作用しないことから、一旦遊離してきたペクチンの再分解が起こりにくく、高分子でメチルエステル化率の高いペクチンが残されるものと結論した。これらの結果はペクチン生成に関して新しい知見を加えたものとして学位授与に値するものと判定した。