



Title	High Functional Bioprocesses for Protein Separation and Enzymatic Reaction Using Mixed Reverse Micellar Systems
Author(s)	山田, 泰司
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39169
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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	やま だ やす し 山 田 泰 司
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 9 2 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 7 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 基礎工学研究科化学系専攻
学 位 論 文 名	High Functional Bioprocesses for Protein Separation and Enzymatic Reaction Using Mixed Reverse Micellar Systems (混合逆相ミセル系を用いるタンパク質分離と酵素反応のための高機能性バイオプロセス)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 駒 沢 勲 (副査) 教 授 畑 田 耕 一 教 授 東 稔 節 治 教 授 葛 西 道 生 助教授 久保井亮一

論 文 内 容 の 要 旨

逆相ミセルは有機相中に形成されるナノメータースケールの会合コロイドであり、生体膜にも類似した特異的な秩序構造を形成する。本論文は、逆相ミセル系を利用したタンパク質の分離と酵素反応のための新規なバイオプロセスの設計に関する研究をまとめたものであり、5章からなる。緒言では従来の研究を総括し、解決すべき問題と本研究の必要性を論じ、全体の構成を示した。

第1章ではアニオン性界面活性剤AOTにより形成される逆相ミセル系の物理化学的特性、およびタンパク質－ミセル間・ミセル－ミセル間相互作用を定量的に検討した。AOT系の特性の修飾・問題点の改善には、各種非イオン性界面活性剤やレシチンとの混合ミセルの形成が有効であることを明らかにした。

第2章ではバルク水相から逆相ミセル相へのタンパク質の液々抽出に及ぼすタンパク質－ミセル間およびミセル－ミセル間相互作用の影響を明らかにし、抽出挙動を定量的に表すモデルを提案した。さらに、アフィニティリガンドを用いる混合ミセル系を利用したタンパク質（リパーゼ、コレステロールオキシダーゼ）の高選択的抽出、および連続的分離・精製を行った。

第3章では、AOT逆相ミセル内に可溶化した酵素の活性に及ぼすタンパク質－ミセル間およびミセル－ミセル間相互作用の影響を検討した。各種非イオン性界面活性剤やレシチンとの混合ミセル系によりこれらの相互作用を制御すれば酵素の活性・安定性が有効に改善されることを明らかにした。

上記の成果の応用は第4章と第5章に記載した。

第4章では新規なバイオリアクターの設計を行った。AOT／レシチン混合ミセルを用いる水－有機二相系で β -ガラクトシダーゼによるガラクトースの生産を行うことにより、酵素をミセル内に安定に保持したまま反応を行い、ガラクトースをバルク水相中に連続的に回収できることを示した。また、AOTとTween85を用いる有機二相系を利用してリパーゼによるオリーブオイルの加水分解を行うことにより、疎水性脂肪酸とリパーゼの異なる相への分離・回収が可能であることを明らかにした。

第5章では機能性生体複合材料の調製場として利用するための設計指針を検討した。脂溶性修飾剤による酵素表面の疎水的化学修飾を一例として行い、酵素－ミセル間相互作用を制御することにより酵素をミセル界面に配向し、リガンドの添加により活性部位を保護したまま有効に修飾が行えることを明らかにした。

以上の研究結果は、生体触媒・生体膜等の特異な機能を模倣した高効率のバイオプロセスの開発のために有益な知見を与える。

論文審査の結果の要旨

本論文は、界面活性剤が有機相中で自発的に凝集して生成する会合コロイドであり、その内部にマイクロウォータープールをもつ逆相ミセルを酵素・タンパク質の分離場、反応場および材料調製場として研究したものである。主な結果は次のとおりである。

- (1) アニオン性界面活性剤 AOT (Aerosol-OT) はミセル形成能に優れており、これまでよく用いられてきたが、可溶化した酵素・タンパク質が変性・失活をおこす場合が多い。この原因は酵素・タンパク質と AOT 分子間の静電的あるいは疎水的相互作用によることを、AOT ミセルの特性に関する各種の測定から明らかにした。
- (2) 生体由来のレシチンや非イオン性界面活性剤は酵素・タンパク質に対して安定化作用があるが、ミセル形成能は極めて限定されている。これらと AOT との混合ミセルの形成について研究し、さらに混合ミセル系では AOT 単独系でみられた相互作用を制御でき、酵素・タンパク質の高選択的な抽出分離および安定化ができることを明らかにした。
- (3) 混合ミセルを用いて可溶化した酵素の反応特性を調べ、酵素の活性と安定性の増大について研究した。各種の混合ミセルを用いて、ミセル内に酵素を安定に保持した状態でバルク水相とミセル内水相との間の反応成分（基質）および生成物の自由な移動（分配）を可能とする新規なバイオリクターを提出した。また、有機相内成分をミセル内水相において反応させ、生成物を有機相内およびバルク水相へ分配させる方式も可能なことを見出している。
- (4) 混合ミセルを用いて酵素－ミセル間の静電的および疎水的相互作用を適度に制御することにより、失活を抑制させるとともに酵素をミセル界面に配向できることを見出した。そこで、脂溶性修飾剤による酵素表面の疎水的修飾を行った。水相（均一相）を用いたこれまでの方式では疎水的修飾剤による酵素表面の化学修飾は困難であった。したがって、逆相ミセル系は生体複合材料の調製場としても用いられることになる。

これら一連の研究は、逆相ミセル系に化学工学の立場から新しい知見を与えたものであり、逆相ミセルの分離場、反応場、さらに材料調製場としての途を拓いたものである。よって、本論文は博士（工学）の価値あるものと認める。