

Title	Studies on Thermophilic α -Amylase from <i>Bacillus Stearotherophilus</i>
Author(s)	Ogasahara, Kyoko
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/735
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

【 2 】

氏名・(本籍)	お が さ は ら き ょ う こ 小 笠 原 京 子
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 1 7 7 5 号
学位授与の日付	昭 和 4 4 年 6 月 2 5 日
学位授与の要件	理 学 研 究 科 生 物 化 学 専 攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	耐熱性 α -アミラーゼの研究
論文審査委員	(主査) 教 授 伊 勢 村 寿 三 (副査) 教 授 成 田 耕 造 教 授 奥 貫 一 男

論 文 内 容 の 要 旨

温度は、生物の生育・増殖に影響を与える重要な環境因子である。通常の生物は、常温（25±10°C）によく適応しており、45°C以上の高温においては、生育不可能である。ところが、Thermophiles, 好熱生物, は、通常のタン白質ならば、変性してしまうような高温（50~70°C）においてのみ、生育・増殖することが可能である。Thermophiles は、何故そのような高温において、生育出来るのであろうか。Thermophiles の耐熱性の機作を知るための第一歩として、生体の重要な構成物質であるタン白質分子レベルにおいて、その耐熱性の由来を探ろうとした。B. stearothermophilus Donk, strain BS-1 を55°Cで培養、産出される α -アミラーゼ（耐熱性 α -アミラーゼ）を、精製結晶化し、分子の物理化学的性質、熱安定性、そして、変性させた耐熱性 α -アミラーゼの回復におよぼす温度の影響が調べられた。

耐熱性 α -アミラーゼの分子量、固有粘度は、B. subtilis（生育温度：37°C） α -アミラーゼのそれらと類似しており、球状タン白質であることが示された。施光分散、円二色性の測定によって、耐熱性 α -アミラーゼは、約20%の α -ヘリックス構造を含むことが示され、骨格構造においても、B. subtilis α -アミラーゼと、異ならなかった。近紫外波長領域における円二色性は、耐熱性 α -アミラーゼと B. subtilis α -アミラーゼとにおいて、著しく異なり、両酵素の分子において、アミノ酸側鎖の存在状態が異なることが示唆された。耐熱性 α -アミラーゼの熱安定性は、カルシウムイオン、アルブミン等の共存によって、強化されることが示された。Thermophiles によって生産される酵素は、固有の熱安定な性質を持っているが、生体内においては、共存する種々の物質との相互作用によって、固有の熱安定性が、より強化され、持続されていることが、示唆された。

論文の審査結果の要旨

生物の生長、増殖および活動に関して温度が重大な影響をもつことはよく知られているが、いわゆる好熱性生物と称し、生体を構成する通常の蛋白質などが変性をうける高温度（50～70°C）でも生育可能な生物が存在する。これらを構成する蛋白質が常温を生育の適温とする通常の生物を構成する蛋白質とどのような差異があるかはきわめて興味のある問題である。

本論文においては、耐熱性菌である *Bacillus Stearothermophilus* Donk, Strain BS-1 よりその産出する α -アミラーゼを抽出、精製、結晶化してその物理化学的特性を測定し、これを他の α -アミラーゼ特に *Bacillus Subtilis* の α -アミラーゼと比較し、耐熱性の原因を明らかにせんとしたものである。この耐熱性 α -アミラーゼは分子量48,000固有粘度 0.032dl/g であって、これらの値は *Bacillus Subtilis* の α -アミラーゼの値と大差はない。旋光分散、円偏光二色性などより推定せられる分子のらせん含量も約20%でこれまた両者においてほとんど等しい。それにもかかわらずこの酵素の至適温度域は65～73°Cであり *B. Subtilis* の α -アミラーゼのそれより約20°Cも高い。只円偏光二色性の測定結果より側鎖の存在状態にいちじるしい差がみとめられる。

耐熱性アミラーゼは8M尿素のごとき変性剤に対しても *B. Subtilis* のアミラーゼに比していちじるしく安定であるがカルシウムイオンが安定性に寄与する点は両者においてかわりはない。一度変性をうけた蛋白質の復元に関しても復元過程がこの蛋白質では高温で進行することが可能であることが知られた。ウシ血清アルブミンの共存では55°Cにおいてもきわめて急速に復元する。

以上の結果から、この蛋白質は熱に安定な固有の高次構造をとりうることに係し、Campbell のいうごとく低分子量ランダム構造が熱安定性と直接関係するものではないこと、おそらくは生体成分の集合および組織性などが関連していることを示唆している。

以上、小笠原君の論文は、興味ある蛋白質の物性に関して新しい知見を加え、蛋白質化学に寄与したところが大きい。よって理学博士の学位論文として十分であると認める。