

氏名(本籍)	木 <sup>き</sup> 島 <sup>じま</sup> 龍 <sup>たつ</sup> 朗 <sup>ろう</sup> (山形県)		
学位の種類	博士(工学)		
学位記番号	博甲第1,383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5条第1項該当		
審査研究科	工学研究科		
学位論文題目	プロテアーゼの触媒活性と特異性に対する溶媒効果		
主査	筑波大学教授	工学博士	木瀬秀夫
副査	筑波大学教授	工学博士	内島俊雄
副査	筑波大学教授	工学博士	白川英樹
副査	筑波大学助教授	工学博士	赤木和夫
副査	筑波大学助教授	工学博士	藤森憲

## 論文の要旨

従来、酵素は水溶液中でのみ用いられてきたが、近年高濃度の有機溶媒中でも酵素活性の発現が可能であることが示された。しかし、有機溶媒は酵素と疎水的な相互作用をすると考えられ、したがって有機溶媒中では酵素の高次構造とそれに関連した特異性が変化すると考えられるが、この点に関してはこれまでほとんど研究されていない。

本研究では、セリンプロテアーゼを取り上げ、まず各種の有機溶媒/水系における溶媒組成と酵素活性の関係を明らかにし、さらにアミノ酸エステルの加水分解における立体特異性の変化を調べた。さらに、蛍光分光法を用いて酵素の高次構造の変化を検出し、活性との関連を検討した。これに関連して、有機溶媒中でのエステル交換における基質特異性についても検討した。それらの結果を要約すると以下の通りである。

- 1) セリンプロテアーゼは、高濃度の有機溶媒中において高い立体特異性を保持し、水系と同じ $P_1$ 基質特異性を示すことを明らかにした。この現象を利用して、有機溶媒中でのアミノ酸エステルの加水分解により高効率のアミノ酸の光学分割を実現した。
- 2) 含水有機溶媒中における酵素の蛍光スペクトル変化と溶媒活性との間には明瞭な相関関係があり、酵素の高次構造変化を知る上で重要な手がかりとなることを示した。
- 3)  $\alpha$ -キモトリプシンの $P_1'$ 基質特異性は、高濃度有機溶媒中でも水系と同様に広く、各種の構造のアルコールを収容し、これを利用して各種のアミノ酸エステルの合成が可能であることを示した。
- 4) 有機溶媒中でのアミノ酸のエステル交換反応は、アシル酵素中間体を經由する3段階の反応機構

で進行するが、その基質特異性と動力学的測定から、水系と異なり脱アシル化が比較的速く進行することを示した。

## 審 査 の 要 旨

本論文は、有機溶媒／水系でのプロテアーゼの溶媒活性と特異活性とに関するもので、動力学測定と分光法を組み合わせることで酵素研究に新分野を開拓したものと評価される。特に、蛍光分光法による酵素の構造変化と活性との相関に関して興味ある結果が得られる。

よって、著者は博士（工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。