

## 第4章 総括

本研究は有機溶媒中での酵素の構造変化を調べ、その上で安定性を高めることを目的として行った。蛍光スペクトルの測定、反応初速度の測定、反応系中への添加剤の使用および共凍結乾燥による酵素の調製を、この目的を達成する手段として用いた。

第2章での蛍光スペクトルを用いた研究から、有機溶媒中での酵素には、本来は内部に埋もれていた Trp 残基が酵素表面に出て、溶媒にさらされるような立体構造変化が起こっていることがわかった。この変化は溶媒の組成によって速度が異なり、有機溶媒の濃度が増すほど速くなる傾向が見られた。しかし、高濃度のアセトニトリルを用いた際には逆に変化が遅くなる現象が見られた。アセトニトリルを高濃度で用いた際の酵素の立体構造変化をさらに遅らせることができれば、この系において酵素を有効利用できるようになると考えられる。

第3章ではアセトニトリルが高濃度の条件で、酵素の立体構造変化を遅らせるための手段を検討した。まず、酵素溶液にアミド類、糖類などの添加剤を加えてからアセトニトリルを加えることで、酵素をアセトニトリルから保護する効果を得ようと考えた。その結果、デンプン、デキストリンに高い効果があることがわかったが、これは添加剤効果と担体としての効果が混在したものである。ホルムアミドは純粋に添加剤としての効果が高く、酵素と水素結合する物質が、より有機溶媒中での酵素の安定化には効果があることがうかがえた。

添加剤をただ加えるだけでなく共凍結乾燥することで、より酵素との複合体を確実に形成させようと考え、シクロデキストリン類と酵素の共凍結乾燥を行った。結果、ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンが最も効果が高く、α-キモトリプシンの活性向上、安定性向上に非常に適していることがわかった。これは凍結乾燥時に酵素の変性を防ぐ効果と、有機溶媒中では酵素複合体周辺に水を集める効果とが二重に働くためと考えられる。

以上のような研究により、有機溶媒中、特にアセトニトリル中においてはα-キモトリプシンの立体構造変化を観測し、その変化を抑制することができたと考える。有機溶媒中での酵素の有効利用は、これからの化学に重要な事項となってくるであろう。本研究がその基礎となるならば幸いである。