

氏名	芳 川 憲 司		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	農 学		
学位授与番号	博 乙 第 2812 号		
学位授与の日付	平成 6 年 9 月 30 日		
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 4 条第 2 項該当)		
学位論文題目	糸状菌由来の $\alpha$ -キシロシダーゼと $\alpha$ -グルコシダーゼに関する研究		
論文審査委員	教授 鈴木 幸雄	教授 河津 一儀	教授 杉尾 剛
	教授 宇高 正徳	教授 吉田 隆志	

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

$\alpha$ -キシロシダーゼは1985年に初めて報告された酵素で、その研究の歴史は浅く、まだ数例の報告があるのみである。本酵素の糖転移作用により合成される $\alpha$ -キシロオリゴ糖の性質、生理機能については全く研究がされていない。また、本酵素は、その基質成分であるキシロースとC-6位のヒドロキシメチル基の有無だけで構造的に違っているグルコースを基質成分とする $\alpha$ -グルコシダーゼとは、基質特異性においても何らかの相関性があるのではないかと考えられるが、これに関する研究報告は全くない。

本研究は*Aspergillus flavus* MO-5株の生産する2種類の $\alpha$ -キシロシダーゼ（IおよびII）を精製し、その性質、転移作用様式を詳細に調べ、 $\alpha$ -キシロシダーゼIIが新しいタイプの酵素であることを見出し、ついで両酵素と $\alpha$ -グルコシダーゼの相関性を比較検討し、*Asp. niger*由来の $\alpha$ -グルコシダーゼが $\alpha$ -キシロシダーゼ活性をもつbifunctionalな酵素であることを初めて明らかにしたものである。さらに $\alpha$ -キシロシダーゼと $\alpha$ -グルコシダーゼによる有用糖質の開発について検討し、 $\alpha$ -キシロシダーゼによる新規血中アミラーゼ分別定量用基質の創製、および日本酒やみりんの呈味成分エチル- $\alpha$ -D-グルコシドの $\alpha$ -グルコシダーゼによる酵素的大量製造法の確立を行い、その食品味質改善機能について研究したものである。

## 論文審査の結果の要旨

$\alpha$ -キシロシダーゼは1985年に初めて報告された酵素で、その研究の歴史は浅く、現在数例の報告があるのみである。また、一般に $\alpha$ -グルコシダーゼとは、基質特異性の点で全く異なる酵素であると考えられている。しかし、両酵素の基質構成糖であるキシロースとグルコースは、C-6位のヒドロキシメチル基の有無を除いて、その立体配置が全く同じ糖であり、両酵素の基質特異性においても何らかの相関性があるのではないかと考えられるが、これに関する研究報告はない。さらに $\alpha$ -キシロシダーゼの糖転移作用については、ほとんど研究報告がなく、また、その転移作用を利用して合成した $\alpha$ -キシロオリゴ糖の性質や機能については全く研究がされていない。

本研究は、まず自然界から $\alpha$ -キシロシダーゼ生産菌を分離してAspergillus flavusであると同定し、菌体内抽出液から2種類の $\alpha$ -キシロシダーゼIおよびIIを、それぞれ各種カラムクロマトグラフィーにより電気泳動的に単一にまで精製した。ついで、両精製酵素の分子量、作用至適温度、pHなどの一般的諸性質に加えて、基質特異性や主転移生成物の構造解析による糖転移作用様式を詳細に調べ、 $\alpha$ -キシロシダーゼIIが新しいタイプの酵素であることを見出すとともに、 $\alpha$ -キシロシダーゼには、①キシログルカンオリゴ糖だけを水解する植物由来の酵素、② $\alpha$ -キシロシダーゼIに代表される微生物由来の酵素、③前述の①②とは基質特異性や糖転移作用様式を異にする $\alpha$ -キシロシダーゼIIのタイプの酵素の3つのグループが存在することを明らかにした。さらに、 $\alpha$ -キシロシダーゼと $\alpha$ -グルコシダーゼの相関性を明らかにするため、ビール酵母、パン酵母、A. niger由来の $\alpha$ -グルコシダーゼを精製し、これらに精製 $\alpha$ -キシロシダーゼI、IIを含めた5つの酵素の基質特異性を詳細に調べ、測定した速度パラメーターに基づいて比較した結果、A. niger由来の $\alpha$ -グルコシダーゼがイソプリメベロースを良好な基質とし、その至適温度とpH、1-デオキシノジリマイシンによる阻害型式、阻害物質定数および転移作用様式が、イソマルトースを基質とした時と完全に一致したことから、同一触媒部位で $\alpha$ -グルコシダーゼ活性と $\alpha$ -キシロシダーゼ活性の両活性を発現していることが判明した。また、 $\alpha$ -キシロシダーゼと $\alpha$ -グルコシダーゼによる有用糖質の開発を検討し、 $\alpha$ -キシロシダーゼによる新規血中アミラーゼ分別定量用基質の創製、および日本酒やみりんの呈味成分エチル- $\alpha$ -グルコシドの $\alpha$ -グルコシダーゼによる酵素的大量合成法の確立を行ない、その食品味質改善効果を明らかにした。以上の研究成果は、グルコシダーゼの作用特性の解明と応用に大きく貢献するのである。よって、本審査会は本論文を博士（農学）の学位論文に十分値するものと認める。