

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 (乙) 第	号	氏 名	場家 幹雄
主 論 文 題 目 :				
生体成分の定量分析に有用な酸化還元酵素の開発と機能改変				
(内容の要旨)				
<p>臨床検査や食品の製造管理・品質検査の分野では、様々な物質が含まれている生体試料中から測定すべき物質のみを正確に定量することが求められる。各種分析技術の中でも、酵素を利用する測定法は簡便性・迅速性・微量化・正確性・安全性において優れ、自動化にも対応しやすいため広く普及している。測定用酵素には酸化還元酵素が主に用いられており、その理由として、酵素反応によって生成する過酸化水素や補酵素 NAD(P)H を光学的もしくは電氣的シグナルとして検出できることが挙げられる。</p> <p>酵素的測定法に関しては、新規な方法の開発、および既存の方法の性能改良が進められている。これに伴い、さらに優れた性能（高純度、高い安定性、高い基質特異性、高い基質親和性）を有する酵素がより厳しく求められている。本研究は、生体成分の定量分析に有用な 5 種類の酸化還元酵素の開発および機能改良を目指したものである。具体的な研究内容は下記のとおりである。</p> <ol style="list-style-type: none">1) 腫瘍マーカーとして注目されているジアセチルスペルミンの測定用酵素として、新規なジアセチルスペルミンオキシダーゼを <i>Debaryomyces hansenii</i> から見出した。各種添加物を検討し、本酵素の安定性と基質特異性を向上させた。本酵素遺伝子をクローニングし、組換え酵素を作製した。2) <i>Pseudomonas</i> 由来 L-フコースデヒドロゲナーゼを NADPH 再生系に利用することを目的とし、キレート試薬を添加して酵素を安定化させた。3) 老化マーカー等として期待されている D-アミノ酸の測定に有用なブタ腎臓由来 D-アミノ酸オキシダーゼを、化学修飾およびアミノ酸置換によって安定化させることに成功した。4) <i>Rhizobium</i> 由来ヒスタミンデヒドロゲナーゼについて、遺伝子のクローニング、組換え酵素の生産を行った。本酵素は既知のアミン酸化酵素および脱水素酵素の中で、ヒスタミンに対する基質特異性が最も優れていることがわかった。さらに本組換え酵素が水産食品中のヒスタミンの定量に利用可能であることを確認した。5) N-エチルマレイミド (NEM) 反応性アミノ酸が少ないという特徴を有するアシル CoA オキシダーゼ (ACO) を、<i>Arthobacter ureafaciens</i> から ACO 遺伝子をクローニングすることにより見出した。得られた組換え酵素は NEM に対して優れた耐性を示したため、遊離脂肪酸の測定用酵素として有用である。				