

総論

応用酵素学の奥深さを理解するにあたり、まず本章では酵素の利用に関する歴史と基礎的な技術について紹介する（酵素の語源については p.5 の枠内トピックスを参照）。

人類が酵素を物質変換反応に初めて利用したのは、紀元前、酵母によるアルコール発酵であると思われるが、アルコール発酵を巡り、生きた酵母が必要不可欠かどうかについて、リービッヒ (J. Liebig) とパスツール (L. Pasteur) が議論を繰り広げたのは、19世紀の中ごろになってからである。その後19世紀の終わりに、ブフナー (E. Buchner) によって酵母の無細胞抽出液でもアルコール発酵が可能であることが示され、遺伝子の複製と代謝を切り離して議論することができるようになった。1876年にキューネ (W. Kühne) によって酵素 (enzyme) という術語が提唱され、1874年にはハンセン (C. Hansen) が凝乳用酵素製剤として仔ウシ胃由来のキモシン製剤をつくった。これが工業生産された初めての酵素といわれている。また、高峰譲吉も同時期 (1896年) に麹菌 (*Aspergillus oryzae*) 由来の粗アミラーゼの生産を行い、微生物由来の酵素として初めて製品化した。1906年には有機溶媒中でブタ膵臓由来リパーゼを作用させることで、メタノールとオレイン酸からメチルオレイン酸の合成が行われており、古くから酵素は有機合成反応にも利用されてきた。

一方、酵素がタンパク質であることは19世紀初頭には推測されていたが、化学の視点から酵素の研究が始まったのは19世紀半ば以降である。酵素の触媒機構については、1894年にフィッシャー (E. Fischer) が「鍵と鍵穴」説を提唱後、1926年にサムナー (J.B. Sumner) によってウレアーゼが初めて結晶化され、1965年にはリゾチームの立体構造解析がなされ、生化学的データが分子のレベルで説明できるようになった。

20世紀半ば以降、ワトソン (J.D. Watson) とクリック (F.H.C. Crick) によるDNA二重らせん構造の解明に始まる分子生物学の発展と、

表 1.1 各種 α -アミラーゼの比較 (辻阪好夫 他編: 応用酵素学, 講談社サイエンティフィク (1979) より改変転載)

酵素源	耐熱性(°C) (15分処理)	pH安定性 (30°C, 24時間)	至適 pH	デンプン分解	
				分 解 限界(%)	主な生成物
細菌 <i>B. amyloliquefaciens</i>	65~80	4.8~10.6	5.4~6.0	35	デキストリン マルトース
<i>B. licheniformis</i>	95~110	—	5.5~6.0	35	デキストリン マルトース マルトペンタオース
かび 麹菌 (タカ A)	55~70	4.7~9.5	4.9~5.2	48	マルトース
<i>A. niger</i>	55~70	4.7~9.5	4.9~5.2	48	マルトース
酵母 <i>Endomycopsis</i>	35~50	6.0~7.5	5.4	96	グルコース
<i>Oospora</i>	50~70	6.0~10.3	5.6	37	デキストリン マルトース
動物 膵臓 (ヒト)	—	4.8~11	6.9	40	マルトース
唾液 (ヒト)	—	4.8~11	6.9	40	マルトース
植物 麦芽	—	4.8~8.0	5.3	40	マルトース
緑豆もやし	50~70	5.0~8.3	5.4	70	グルコース マルトース

く、同じ *Aspergillus* 属のかびでも菌株が異なれば、それぞれの α -アミラーゼの間で著しい相違が認められる。

ブドウ糖などの製造において、高濃度のデンプン懸濁液に α -アミラーゼを加え、加熱してデンプンを糊化させると同時に α -アミラーゼの作用で液化する工程がある (詳細は3章を参照)。高濃度のデンプンを均一に糊化させ、透明な液化液とするためには、ジャガイモデンプンで90°C以上、トウモロコシデンプンでは100°C付近の高温を保って酵素反応を行わなければならない。ここで使用される α -アミラーゼは高温に耐えるものでなければならない。従来は中温菌の酵素が利用されていたので、90°C以上の高温では失活が起り、トウモロコシデンプンの糖化にはしばしば支障をきたしていたが、高温菌 *Bacillus licheniformis* の酵素が開発されこの問題は解消されるようになった。

これとは逆に、製パン工業ではドウ (dough) の生地を調製するためと酵母の発酵原料となるマルトースなどの糖を生成させるために α -アミラーゼが使用されることがあるが、これに用いられる酵素はドウの熟成中に徐々に作用し、焼き上げ工程中で速やかに失活するような比較的耐熱性の低いものが適している。したがって耐熱性の高い細菌由来の酵素は使用に適さず、現在は主としてかびの α -アミラーゼが使用されている。

〔2〕 アミノ酸オキシダーゼ (amino acid oxidase)

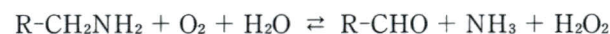


アミノ酸オキシダーゼはアミノ酸を酸化して相当するケト酸、アンモニア、過酸化水素を生成する酵素であり、L-アミノ酸に作用するL-アミノ酸オキシダーゼとD-アミノ酸に作用するD-アミノ酸オキシダーゼがある。現在までに知られている酵素はいずれもフラビン酵素である。アミノ酸オキシダーゼはL-あるいはD-アミノ酸の検出や定量、またDL-アミノ酸のうちどちらか一方のみに作用することによってL-あるいはD-アミノ酸の調製に利用される。*Trijonopsis vaiabilis* 由来のD-アミノ酸オキシダーゼは、7-アミノセファロsporラン酸 (7-ACA) 合成プロセスの一部に用いられている。

(a) L-アミノ酸オキシダーゼ ヘビ毒、ラット腎臓などから精製されており、*Crotalus adamanteus* (トウブヒシモンガラガラヘビ) の毒液から精製された酵素はFADを含んでおり、ラット腎臓の酵素はFMNを補酵素とする。

(b) D-アミノ酸オキシダーゼ ほとんどすべての哺乳動物の腎臓、肝臓、脳に見出されている。その他、鳥類、魚類、軟体動物、昆虫、かび、細菌にも存在する。

〔3〕 アミンオキシダーゼ (amine oxidase)



アミンオキシダーゼはアミンを酸化して相当するアルデヒド、アンモニア、過酸化水素を生成する酵素で、モノアミン、ジアミン、ポリアミンに作用する種々の酵素があり、哺乳動物、植物、微生物に存在する。FADを含む酵素と銅を含む酵素に大別される。アミンオキシダーゼは生体アミンの定量に用いることができる。

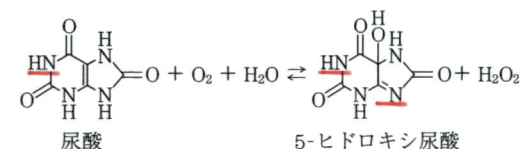
(a) FADを補酵素とするアミンオキシダーゼ (EC 1.4.3.4) 哺乳動物の肝臓、脳のミトコンドリアに局在し、メチルアミン、エチルアミン以外の脂肪族アミンに作用する。チラミンオキシダーゼはチラミン、ドーパミンに作用する。プトレッシンオキシダーゼは、プトレッシン、カダベリン、スペルミジンに作用する。ポリアミンオキシダーゼは、スペルミン、スペルミジンに作

用する。

(b) 銅を含むアミンオキシダーゼ (EC 1.4.3.21, 22) ブタ腎臓から精製されたジアミンオキシダーゼでは、カダベリン、プトレッシン、1,6-ジアミノヘキサン、ヒスタミンが基質になる。

2.1.4 窒素化合物を供与体とする酸化還元酵素 (EC 1.7群)

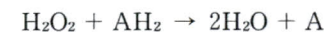
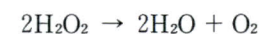
尿酸オキシダーゼ (urate oxidase)



尿酸オキシダーゼはウリカーゼ (uricase) とも呼ばれ、尿酸に作用してそのプリン環構造を開裂する酵素で、生成した5-ヒドロキシ尿酸は非酵素的にアラントインとCO₂に分解される。生体内におけるプリン塩基の代謝に重要な役割を果たしている。痛風をはじめとする高尿酸血症を伴う疾患の診断ならびに治療にはまず血中尿酸の測定が必要であり、尿酸オキシダーゼが用いられている。

2.1.5 ペルオキシダーゼ (peroxidase) (EC 1.11.1群)

〔1〕 カタラーゼ (catalase)



カタラーゼは図2.1に示す鉄プロトポルフィリンを活性中心にもつヘムタンパク質で、過酸化水素を分解する他に、過酸化水素の存在下でアルコールやギ酸などの酸化も触媒する。本酵素は、嫌気的条件下で生育する細菌を除き、すべての動物、植物、微生物に広く存在する。真核生物ではペルオキシソーム中に高濃度に存在し、好气的環境に生存する生物の体内に生成される過酸化水素を分解、無毒化するのに働いていると思われる。過酸化水素を生成する他の酵素

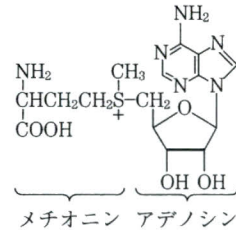


図 2.2 S-アデノシル-L-メチオニンの構造式

DNA メチルトランスフェラーゼ (MTase)

S-アデノシル-L-メチオニンをメチル基供与体として DNA 上のアデニンまたはシトシンにメチル基を転移する反応を触媒する。認識する塩基の種類とメチル基を転移する位置によって表 2.2 に示す 3 種類に分類される。

表 2.2 DNA メチルトランスフェラーゼの特異性

酵 素	シトシン-5- メチルトランスフェラーゼ	シトシン-N ⁴ - メチルトランスフェラーゼ	アデニン メチルトランスフェラーゼ
EC 番号	EC 2.1.1.37	EC 2.1.1.113	EC 2.1.1.72
反応生成物			
修飾修飾系 (認識特異性)	HpaII (Cm5CGG)	BamHI (GGATm4CC)	HindIII (m6AAGCTT)

細菌から高等動物まで広く存在しており、細菌では複製過程におけるミスマッチ修復に、高等生物では遺伝子発現の制御に関与していることが知られている。さらに、細菌には制限修飾系 (restriction-modification system) を構成するメチルトランスフェラーゼが存在し、特異的な塩基配列を認識して位置特異的にメチル基を転移する。代表的な制限修飾系メチルトランスフェラーゼの認識特異性を表 2.2 に示した。これらのうちのいくつかは遺伝子工学の試薬として利用されている。

2.2.2 アミノアシルトランスフェラーゼ (aminoacyltransferase, EC 2.3.2群)

アミノアシルトランスフェラーゼは、アミノアシル基を転移してエステルも

しくはアミドを形成する酵素群をいう。アシルトランスフェラーゼ (EC 2.3.1群) の多くは Coenzyme A (CoA) 関与であるのに対して、本酵素群は CoA とは無関係である。

トランスグルタミナーゼ (transglutaminase, TGase)

トランスグルタミナーゼは、タンパク質およびペプチド中のグルタミン残基の γ -カルボキシアミド基と一級アミンとの間のアシル基転移反応を触媒する酵素である。アシル基受容体としてタンパク質中のリシン残基の ϵ -アミノ基が作用すると、タンパク質架橋重合反応となる。また、一級アミンが存在していないときは水がアシル基受容体となり、グルタミン残基をグルタミン酸残基に変換する脱アミド化反応を触媒する。食品加工用に利用されており、放線菌由来の酵素が主として用いられている。

2.2.3 グリコシルトランスフェラーゼ (glycosyltransferase, EC 2.4群)

グリコシルトランスフェラーゼは多糖類、少糖類あるいは高エネルギー結合をもつ糖化合物などから糖を転移する酵素の総称であるが、無機リン酸を受容体とするホスホリラーゼ (phosphorylase)、糖類を受容体とする狭義のグリコシルトランスフェラーゼなどがその代表的なものである。グリコシルトランスフェラーゼは、生理的には特定の炭水化物 (スクロース、アミロース、配糖体 (グリコシド) など) 中のグリコシル結合エネルギーを利用して多種多様な炭水化物の合成に役立っている。

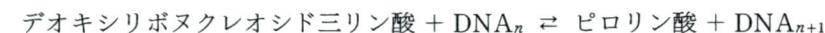
{1} ホスホリラーゼ

(a) **アミロホスホリラーゼ** デンプンおよびグリコーゲン様多糖類中の α -1,4 結合を可逆的に加水分解する酵素であるが、非還元末端から順次分解し枝分れの手前で反応が停止し**限界デキストリン** (図 2.3) を残す。動物、植物、微生物などに存在する。応用面ではグルコース重合物の製造などに用いられている。

2.2.6 ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (nucleotidyltransferase, EC 2.7.7群)

ヌクレオシド三リン酸 (NTP) を供与体として、核酸の 3' 末端水酸基にヌクレオシド三リン酸を転移する酵素を総称する。供与体の種類や鋳型 DNA の要求性によって以下の 3 種類に分類される。生体内の遺伝情報の複製と発現に関与する酵素で、試験管内での遺伝子組換え実験に使用される。

〔1〕 DNA 依存 DNA ポリメラーゼ (DNA-dependent DNA polymerase)



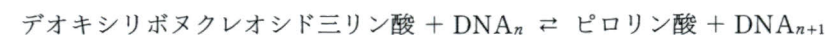
鋳型 DNA とプライマーと 4 種類の dNTP を要求し、プライマーの 3' 水酸基に鋳型の配列に相補的なデオキシリボヌクレオチドを付加する酵素。5'→3' 伸長反応に加え、3'→5' エキソヌクレアーゼ活性も併せてもつ。酵素によっては、これらの活性に加え、5'→3' エキソヌクレアーゼ活性をもつものもある。

〔2〕 DNA 依存 RNA ポリメラーゼ (DNA-dependent RNA polymerase)



鋳型 DNA と 4 種類の rNTP を要求し、RNA の 3' 水酸基に鋳型の配列に相補的なリボヌクレオチドを付加して 5'→3' 方向の伸長反応を行う酵素で、プライマーは要求しない。

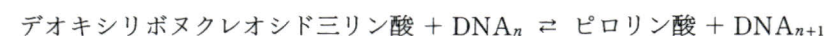
〔3〕 RNA 依存 DNA ポリメラーゼ (RNA-dependent DNA polymerase)



慣用的に逆転写酵素 (reverse transcriptase) と呼ばれ、鋳型 RNA とプライマーと 4 種類の dNTP を要求し、DNA または RNA プライマーの 3' 水酸基に鋳型の配列に相補的なデオキシリボヌクレオチドを付加して 5'→3' 方向の伸長反応を行う酵素で、DNA も鋳型となる。RNA ウイルス由来の酵素が一般的に用いられる。

〔4〕 ターミナルデオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ

(terminal deoxynucleotidyltransferase, TdT)



二本鎖 DNA の 3' 水酸基に任意の dNTP を付加して 5'→3' 方向の伸長反応を行う酵素で、鋳型を必要としない。TdT と略されることがある。

ンの除去と結晶化度を下げるための前処理が必要となる。

セルラーゼは複数の酵素からなり、以下の 3 種類に大別されている。

(a) (b) (c)

天然セルロース → 水和したセルロース → セロビオース → グルコース

(a) **アビセラゼ** (avicelase) 部分的に分解されたセルロースを非還元末端からエキソ型で加水分解し、二糖であるセロビオースを生成する。エキソセロビオヒドロラーゼ (exocellobiohydrolase) とも呼ばれる。

(b) **エンド-1,4-β-D-グルカナゼ** (endo-1,4-β-D-glucanase) 部分的に分解されたセルロースおよびカルボキシメチルセルロース (carboxymethyl cellulose, CMC) のような水溶性のセルロース誘導体をエンド型で加水分解するセルラーゼである。

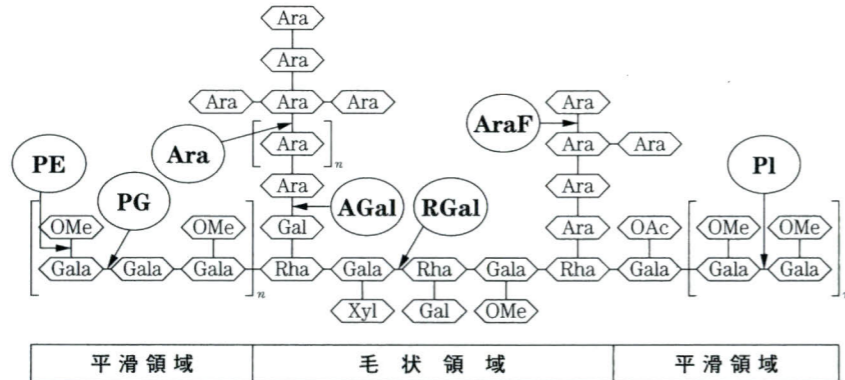
(c) **β-グルコシダーゼ** (β-glucosidase) セロビオースおよびセロオリゴ糖をグルコースに分解する。セロビアーゼ (cellobiase) とも呼ばれる。

〔3〕 ヘミセルラーゼ (hemicellulase)

ヘミセルロース (hemicellulose) とは植物の細胞壁に存在する一群の多糖類の総称で、ヘキソースまたはペントースからできている。ヘミセルロースには、キシラン、ガラクトタン、マンナンなどがあり、分解酵素はそれぞれキシランナーゼ (xylanase)、ガラクタナーゼ (galactanase)、マンナーゼ (mannase) と呼ばれている。ヘミセルラーゼの供給源はほとんど微生物に限られ、かび、細菌に広く存在する。

〔4〕 ペクチナーゼ (pectinase)

ペクチン質に作用する酵素を広くペクチナーゼと総称するが、基質となるペクチン質の種類と、酵素の分解型式とによって細分化される。図 2.5 に示すように、ペクチン質は高等植物、特に果実、野菜などに広く存在し、天然には水に不溶、熱水に可溶のプロトペクチンとして存在している。ペクチナーゼは食品加工などに利用されており、工業的に製造されているものはすべて *Aspergillus* 属などのかび由来である。



Ara=アラビノース, Gal=ガラクトース, Gala=ガラクトツロン酸, OMe=メチルエステル, OAc=エチルエステル, Rha=ラムノース, Xyl=キシロース
 PE=ペクチンエステラーゼ, PG=ポリガラクトツロナーゼ, Ara=アラバナナーゼ,
 AGal=アラビノガラクターゼ, RGal=ラムノガラクトツロナーゼ, AraF=アラビノフラノシダーゼ, PI=ペクチンリアーゼ

図 2.5 果実ペクチンの構造とペクチン分解酵素の作用点²⁾

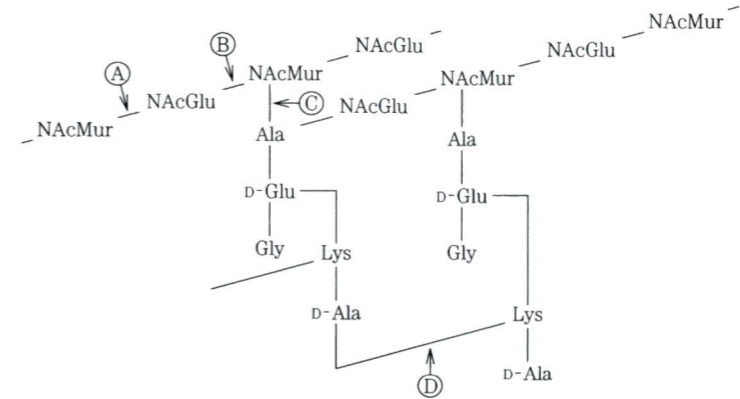
ペクチンを構成する D-ガラクトツロン酸の α -1,4 結合をエンド型に加水分解するポリガラクトツロナーゼ (polygalacturonase, EC 3.2.1.15, 狭義のペクチナーゼ) と, エキソ型に加水分解するエキソポリガラクトツロナーゼ (exopolygalacturonase, EC 3.2.1.67) に加え, EC 3.2 群には分類されないが, ペクチンエステラーゼ (pectin esterase) やペクチンリアーゼ (pectin lyase) などもペクチン質に作用する。

図 2.5 にペクチン分解酵素の作用点をまとめた。

〔5〕 溶菌酵素

溶菌酵素とは微生物の細胞壁を加水分解する酵素群の総称で, 細胞壁溶解酵素とも呼ばれている。細胞壁を分解された微生物は一時的に膨張し, やがて破裂して細胞内容物が拡散するが, この現象を溶菌という。細胞壁の構造は微生物種により異なっており, 溶菌酵素も多様である。

(a) リゾチーム (lysozyme) 細菌細胞壁の基本的な構造体であるムレイン (murein) と呼ばれるペプチドグリカン (peptide glycan) は, 図 2.6 に



A: 卵白リゾチーム
 B: N-アセチルグルコサミニダーゼ
 C: N-アセチルチラミル-L-アラニンアミダーゼ
 D: ペプチダーゼ

図 2.6 *Micrococcus lysodeikticus* のペプチドグリカンの部分構造と分解酵素の作用点 (辻阪好夫他編: 応用酵素学, 講談社サイエンティフィック (1979) より転載)

示すような構造をとっている。代表的な溶菌酵素として, ペプチドグリカン部分に作用するリゾチームがあり, ムラミダーゼ (muramidase) とも呼ばれ, N-アセチルムラミン酸 (NacMur) と N-アセチル-D-グルコサミン (NacGlu) の間の β -1,4 結合を加水分解する。

リゾチームの代表的な供給源は卵白で, 1965 年に X 線結晶構造解析により立体構造が解明されている。きわめて簡単でかつ高い収率で結晶化されるので, 製造法として現在も採用されている。また, 結晶化実験のモデルタンパク質としても有名である。図 2.6 に示すように, リゾチームの他にもアミダーゼやペプチダーゼによって細菌は溶菌する。

(b) β -1,3 グルカナーゼ (β -1,3 glucanase) 酵母の細胞壁はマンナン (mannan), グルカン (glucan), キチン (chitin) などの多糖とタンパク質, 脂質とからできており, これらの成分が相互に結合してからみ合った構造をとっている。グルカンは β -1,3 結合 (80~90%) と β -1,6 結合 (10~20%) から構成されているといわれている。酵母の溶菌は主として β -1,3 グルカナー

表 2.3 プロテアーゼの分類法

分類法	種類	作用機構と特徴
作用様式	エンドペプチダーゼ	基質内部のペプチド結合に作用
	エキソペプチダーゼ	アミノペプチダーゼ アミノ末端に作用 カルボキシペプチダーゼ <u>カルボキシル</u> 末端に作用
作用機構	セリンプロテアーゼ	触媒作用にセリン残基が関与
	チオールプロテアーゼ	活性に関与するチオール基を有する
	酸性プロテアーゼ	至適 pH が低いことが特徴 活性にカルボキシル基が関与
	金属プロテアーゼ	活性に必要な金属 (多くは Zn) を含む 多くの場合至適 pH が中性付近にある

下のようになる。

〔1〕 動物由来のプロテアーゼ

(a) キモトリプシン (chymotrypsin) およびトリプシン (trypsin)

ウシ、ブタをはじめ種々の動物の膵臓で生成されるセリンプロテアーゼ (粹内トピックスを参照) である。不活性化チモーゲンとして生成され、膵液によって小腸に運ばれて、自己消化あるいは他のプロテアーゼで部分的に分解されて活性化される。キモトリプシンは Tyr, Trp, Phe, Leu, トリプシンは Arg, Lys のカルボキシル基側のペプチド結合を優先的に加水分解し、その基質特異性は比較的狭いので、タンパク質の一次構造解析のための限定加水分解反応に用いられる。

(b) ペプシン (pepsin) ブタをはじめ種々の動物の胃から得られる酸性プロテアーゼで、不活性化チモーゲンとして生成され、自己消化による部分分解で活性化される。Phe, Leu あるいは Gln カルボキシル基側のペプチド結合を優先的に加水分解し、その基質特異性は比較的広い。

セリンプロテアーゼ

活性部位に Ser のあるプロテアーゼの総称。活性部位には Ser の他に Asp, His などの残基が共通に存在し、触媒三つ組残基 (catalytic triad) と呼ばれている。

種類によって 5'リン酸あるいは 3'リン酸を生成する。また、二本鎖の核酸にしか作用しない酵素、二本鎖核酸の一本鎖にのみ作用するもの、一本鎖の核酸にのみ作用する酵素などさまざまである。DNA の修飾に用いられる主なヌクレアーゼの特徴を表 2.4 にまとめた。

表 2.4 DNA の修飾に用いられる主なヌクレアーゼの特徴⁵⁾

酵素	由来	特異性	分解産物
エキソヌクレアーゼ			
DNA ポリメラーゼ	<i>E. coli</i>	5' ←←← 3' 3' →→→ ←5'	pN
エキソヌクレアーゼ	ヘビ毒	←←← →→→	pN
エキソヌクレアーゼ III	<i>E. coli</i>	→→→	pN
λエキソヌクレアーゼ	λファージ	←←←	pN
エンドヌクレアーゼ			
DNase I	ウシ膵臓	↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↑ ↑ ↑	oligo(N)
ヌクレアーゼ	ナタマメ	↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓	pN
S1 ヌクレアーゼ	<i>Aspergillus oryzae</i>	↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓	pN
ヌクレアーゼ BAL31	<i>Alteromonas espejiana</i> BAL31	↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ → → ← ←	pN

〔注〕 矢印の数は、活性の相対的な強さを模式的に示している。

〔1〕 動物由来のヌクレアーゼ

(a) 膵臓リボヌクレアーゼ ウシの膵臓から得られる酵素で、ribonuclease I (RNase I) または ribonuclease A (RNase A) と呼ばれる。二本鎖 RNA に作用するエンドヌクレアーゼで、反応中間体として 2',3'-サイクリックリン酸を生成したのち 3'末端にリン酸基が結合したシトシンまたはウラシルをもつオリゴヌクレオチドを生成する。

(b) 膵臓デオキシリボヌクレアーゼ ウシの膵臓から得られる酵素で、deoxyribonuclease I (DNase I) と呼ばれる。二本鎖 DNA に作用するエン

ドヌクレアーゼで、5'末端にリン酸基が結合したオリゴヌクレオチドまたはジヌクレオチドを生成する。塩基に対する厳密な特異性はなく、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Co^{2+} などの2価の金属イオンで活性化される。ニックトランスレーションによるDNAの標識に利用される。

(c) **ヘビ毒エキソヌクレアーゼ** ヘビ毒 (snake venom) に含まれる酵素で、歴史的に有名である。DNA、RNA いずれにも作用して、ポリヌクレオチド鎖を3'末端から順次切断して5'モノヌクレオチドを生成する。活性に Mg^{2+} を要求する。

[2] 植物由来のヌクレアーゼ

ナタマメヌクレアーゼ (mung bean nuclease) ナタマメ (和名: 緑豆, 学名: *Vigna radiata*) のエンドヌクレアーゼで、一本鎖のDNAとRNAの両方に作用する。活性に Zn^{2+} を要求する。

[3] 微生物由来のヌクレアーゼ

(a) **S1ヌクレアーゼ** (S1 nuclease) 麹菌のふすま培養抽出液 (タカジアスターゼ原末) のアルコール沈殿画分から分離される酵素である。熱変性一本鎖DNAをきわめて優先的に加水分解するエンドヌクレアーゼで、5'末端にリン酸基が付加したモノヌクレオチドとオリゴヌクレオチドを生成する。一本鎖のDNAとRNAにも作用する。活性に Zn^{2+} または Co^{2+} を要求する。

(b) **ヌクレアーゼ BAL31** (nuclease BAL31) 海洋性細菌 *Alteromonas espejiana* BAL31株の菌体外ヌクレアーゼである。一本鎖DNAには特異的なエンドヌクレアーゼとして作用するが、二本鎖DNAには両端を末端から同時に分解する5'→3'および3'→5'エキソヌクレアーゼ活性を示す。活性に Mg^{2+} または Ca^{2+} を要求する。

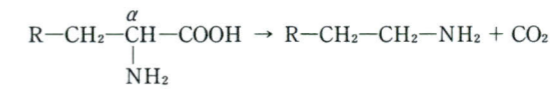
(c) **リボヌクレアーゼ H** (ribonuclease H) RNA-DNAハイブリッド中に含まれるRNA鎖を特異的に切断するエンドヌクレアーゼである。最初は仔ウシ胸腺から見出されたが、その後細菌やRNA腫瘍ウイルスしゅようなど種々の生物で発見された。由来する生物によって性質は異なっている。大腸菌の酵素が遺伝子工学用研究試薬として用いられている。活性に Mg^{2+} または Mn^{2+} を

2.4.1 C-Cリアーゼ (EC 4.1群)

[1] アミノ酸デカルボキシラーゼ

アミノ酸デカルボキシラーゼは、アミノ酸から二酸化炭素とアミンまたは別種のアミノ酸を生成する反応を触媒する。補酵素としてピリドキサルリン酸 (PLP) をもつものと、活性中心にピルビン酸残基をもつものがある。一般にL-アミノ酸にのみ作用する。微生物、動物、高等植物に広く分布している。哺乳動物には種々の生理活性アミンがあり、これらを生成するアミノ酸デカルボキシラーゼが代謝上重要な役割を果たしている。

グルタミン酸デカルボキシラーゼやリシンデカルボキシラーゼなどがよく知られており、これらは、 α -位のカルボキシル基を脱離してそれぞれ γ -アミノ酸である4-アミノ酪酸とアミンであるカダベリンを生成する。

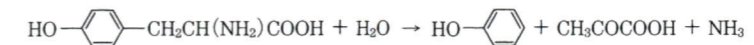


一方、アスパラギン酸デカルボキシラーゼ (L-aspartate 4-carboxy-lyase) は、 β -位カルボキシル基を脱離して、二酸化炭素とL-アラニンを生成する。

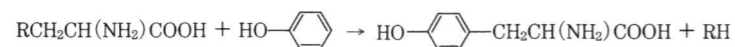
[2] その他のC-Cリアーゼ

(a) **β -チロシナーゼ** (β -tyrosinase) チロシンフェノールリアーゼ (L-tyrosine phenol-lyase) と呼ばれ、チロシンのフェノール、ピルビン酸、アンモニアへの α, β -脱離反応を触媒する。結合補酵素 PLPが活性に必須である。大腸菌や、*Erwinia herbicola* などから精製されている。以下に示す種々の反応を触媒する**多機能酵素**である。

1) α, β -脱離反応



L-またはD-チロシンなどの α, β -脱離反応を触媒し、ピルビン酸を生成するが、L-トリプトファンなどは基質とならない。

2) β -置換反応

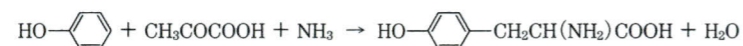
L-セリンとフェノールから L-チロシンを生成する β -置換反応を触媒する。

3) ラセミ化反応



D-または L-アラニンをラセミ化する。

4) 合成反応



α, β -脱離反応の逆反応, すなわちフェノールおよびその誘導体, ピルビン酸, アンモニアから L-チロシン, および用いたフェノール化合物に相当するチロシン誘導体が合成される。

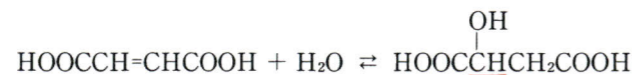
(b) **トリプトファンナーゼ** (tryptophanase) トリプトファンインドールリアーゼ (L-tryptophan indole-lyase) と呼ばれ, β -チロシナーゼと同様に PLP を補酵素とする多機能酵素である。インドール酢酸, ピルビン酸, アンモニアからの L-トリプトファンの酵素合成反応に利用されている。

β -チロシナーゼやトリプトファンナーゼなどの多機能酵素は, 酵素の触媒機構や立体構造など詳細な研究が行われているとともに, 化学工業における合成反応の触媒として利用されている。

2.4.2 C-O リアーゼ (EC 4.2群)

〔1〕 フマラーゼ (fumarase)

フマラーゼはリンゴ酸の可逆的な脱水反応を触媒する。



クエン酸回路 (トリカルボン酸 (TCA) 回路とも呼ばれる) の酵素で,

TCA 回路をもつすべての生物に存在する。乳酸菌などフマラーゼを高生産する微生物の菌体を用いた L-リンゴ酸の工業的製造に利用されている。

〔2〕 トリプトファンシンターゼ (tryptophan synthase)

トリプトファンシンターゼは微生物および植物におけるトリプトファンの生合成経路の最終の反応を触媒する酵素で, インドール-3-グリセロリン酸あるいはインドールと L-セリンから L-トリプトファンを合成する。タンパク質 1 分子当り 1 分子の PLP を含有しており, 大腸菌から単離された酵素は多機能酵素で, トリプトファン合成反応に加え, L-セリン, L-トレオニン, L-システインの α, β -脱離反応, β -置換反応, アミノ基転移反応の 4 種類の反応を触媒する。

〔3〕 ペクチンリアーゼ (pectin lyase)

ペクチンリアーゼはペクチンの (1 \rightarrow 4)-6-O-ガラクトツロナンメチルエステルの β -脱離反応を触媒する酵素で, エンド型にペクチンを分解する酵素である。細胞壁の分解に用いられる。

〔4〕 ニトリルヒドラーゼ (nitrile hydratase, NHase)



ニトリルヒドラーゼは, 短鎖脂肪族ニトリルを水和して酸アミドを生成する反応を触媒する酵素で, 1982 年に日本で *Arthrobacter* sp. J-1 株から初めて単離された。アクリロニトリルからアクリルアミドの合成に応用するため, アクリロニトリルに対する強力な NHase 活性を示す菌株が探索された結果, *Rhodococcus* 属細菌, *Pseudomonas chlororaphis* B 23 株, *Rhodococcus rhodochrous* J1 株などから見出され, 工業生産に利用されている。特に, *R. rhodochrous* J1 株は 2 種類の NHase を生成し, アクリルアミドに対して高い活性を示す酵素 (H-NHase) はコバルトを補因子とし, 培地中にコバルトを添加することで大量生産される。

2.4.3 C-N リアーゼ (EC 4.3群)

アスパルターゼ (aspartase) やフェニルアラニンアンモニアリアーゼ

(phenylalanine ammonia-lyase) などがよく知られている。

アスパルターゼは L-アスパラギン酸をフマル酸とアンモニアに可逆的に転換する。



動物、高等植物、酵母、細菌などに広く分布する。本酵素を高生産する大腸菌を固定化したリアクターを用いて、フマル酸を原料とした L-アスパラギン酸の生産に利用されている。

2.4.4 C-S リアーゼ (EC 4.4 群)

メチオニン γ -リアーゼ (methionine γ -lyase) は、L-メチオニンの α -ケト酪酸、メタンチオール、アンモニアへの α, β -脱離反応を触媒する。Pseudomonas 属細菌などに存在し、酵素タンパク質 1 分子当り 4 分子の PLP が結合しており、活性に必須の役割を果たしている。本酵素も多機能酵素で、 α, β -脱離反応、置換反応、セレノメチオニンおよびセレノールとの反応、ビニルグリシンとの反応、基質プロトン置換反応などを触媒する。Pseudomonas 属細菌由来の酵素には抗腫瘍活性が認められる。

2.5 異性化酵素

分子内の化学結合の位置または構造の再編反応を触媒する酵素で、ラセマーゼ (racemase)、エピメラーゼ (epimerase)、イソメラーゼ (isomerase) などが含まれる。代表的な酵素について以下説明する。

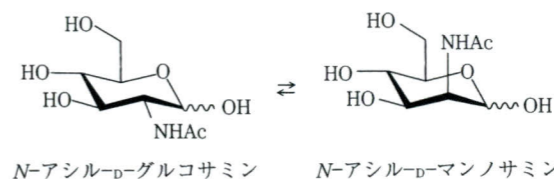
[1] アミノ酸ラセマーゼ

ラセマーゼとはラセミ化を触媒する酵素群で、EC 5.1.1 群に分類される。D 体、L 体にそれぞれ特有の酵素があるわけではなく、一つの酵素でおのおのが基質になり、生成物は両者の等量混合物のラセミ体である。表 2.5 に示すような細菌由来のさまざまなアミノ酸ラセマーゼやアミノ酸エピメラーゼについて研究が進んでおり、補酵素要求性の多様性が明らかになっている。

表 2.5 細菌由来アミノ酸ラセマーゼとエピメラーゼの諸性質

基質	酵素源	補酵素	性質と特徴
アラニン	<i>Streptococcus faecalis</i>	PLP	グルタチオン要求
	<i>Bacillus subtilis</i>	PLP, FAD	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	PLP 要求せず	NH ₂ OH で阻害
	<i>Pseudomonas putida</i>	PLP	アラニンで誘導生成
アルギニン	<i>Escherichia coli</i>	PLP 要求せず	NH ₂ OH で阻害
	<i>Pseudomonas taetrolens</i>	PLP	広い基質特異性
アスパラギン酸	<i>Streptococcus faecalis</i>	PLP 要求せず	アラニンもラセミ化
グルタミン酸	<i>Lactobacillus fermenti</i>	FAD, PLP 要求せず	グルタミン酸のみを基質
ヒドロキシプロリン	<i>Pseudomonas putida</i> A	補酵素なし	
フェニルアラニン	<i>Bacillus brevis</i>	ATP 要求	NH ₂ OH で阻害されない
プロリン	<i>Clostridium sticklandii</i>	PLP 要求せず	SH 阻害剤で阻害

[2] N-アシルグルコサミン 2-エピメラーゼ (N-acylglucosamine 2-epimerase)



不斉炭素を二つ以上もつ基質の一つの不斉炭素の立体配置を変化させる異性化酵素をエピメラーゼと呼ぶ。代表的な酵素として N-アシルグルコサミン 2-エピメラーゼがある。微生物、動物などさまざま生物に存在しており、ブタ腎臓由来の酵素は N-アセチルノイラミン酸の合成反応に利用されている。

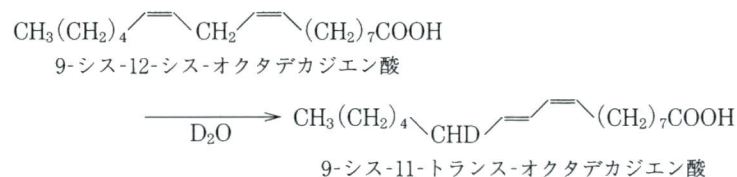
[3] シス-トランスイソメラーゼ

シス-トランス異性体の転換を触媒する酵素で、炭素-炭素二重結合の移動なしに異性化を起こすグループと、二重結合の移動が異性化に付随するものがある。前者の代表としてはマレイン酸イソメラーゼ、後者にはリノレイン酸イソメラーゼがあり、それぞれ下式の反応を触媒する。

(a) マレイン酸シス-トランスイソメラーゼ (maleate isomerase)



(b) リノレイン酸イソメラーゼ (linoleate Δ^{12} -cis- Δ^{11} -trans-isomerase)



[4] 分子内イソメラーゼ

(a) グルコースイソメラーゼ (D-glucose isomerase)



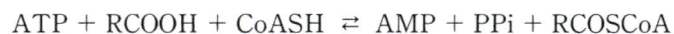
グルコースイソメラーゼは、工業的には D-グルコースから D-フルクトースの製造に利用される重要な酵素である。Pseudomonas 属, Lactobacillus 属などの細菌や放線菌に存在しており, Streptomyces 属由来の固定化酵素が用いられている。

(b) α -グルコシルトランスフェラーゼ (α -glucosyl transferase) スクロースの α -1,2 結合と α -1,6 結合の異性化反応を触媒して、イソマルツロースを生成する。イソマルツロース (商品名: パラチノース) はスクロースと同程度の甘みがあるにもかかわらず、カロリーは 42% である。

2.6 リガ ー ゼ

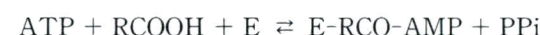
ATP などのヌクレオチド三リン酸のピロリン酸結合の加水分解を伴って二つ分子を結合させる反応を触媒する酵素で、C-O 結合、C-S 結合、C-N 結合、C-C 結合、C-P 結合などを形成する。酵素によっては シンターゼ (synthase) または カルボキシラーゼ (carboxylase) という名前も用いられる。1983 年までは、合成酵素 (synthetase) と呼ばれていた。代表的なりガ ー ゼとその反応を以下に示す。

[1] アシル CoA シンターゼ (acyl-CoA synthase)



アシル CoA シンターゼは、脂肪酸の代謝において重要なプロセスである脂肪酸の活性化に関与しており、脂肪酸カルボキシル基の炭素と CoA の硫黄原

子の中で C-S 結合を形成する。基質となる脂肪酸の炭素鎖の長さによって、アセチル CoA シンターゼ、ブチリル CoA シンターゼ (中鎖脂肪酸アシル CoA シンターゼ)、アシル CoA シンターゼ (長鎖脂肪酸アシル CoA シンターゼ)、極長鎖アシル CoA シンターゼの 4 種類に大別されている。いずれの酵素反応においてもつぎのようなアシルアデニレート中間体を経て反応が進行する。

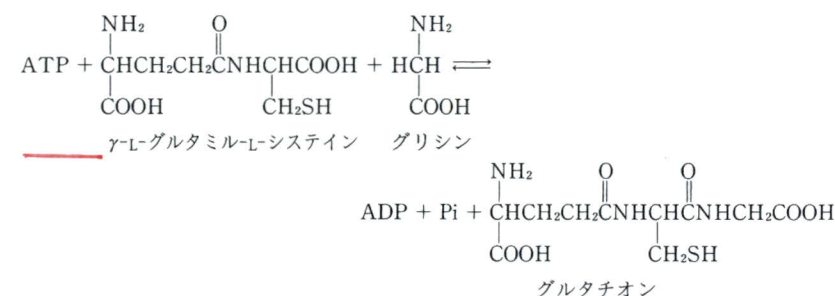


E: 酵素

長鎖脂肪酸アシル CoA シンターゼは、ミクロソーム、ミトコンドリアおよびペルオキシソーム、酵母、細菌に存在している。本酵素は、血中の遊離脂肪酸を測定するのに利用されている。

[2] ペプチドシンターゼ

グルタチオンシンターゼ (glutathione synthase)



システインのカルボキシル基の炭素とグリシンのアミノ基の窒素原子間で C-N 結合を形成する反応を触媒する。動物の赤血球、肝臓、高等植物、酵母、細菌に存在する。

[3] 核酸リガ ー ゼ

DNA または RNA のホスホジエステル結合を形成する反応を触媒する酵素で、DNA リガ ー ゼは、図 2.11 に示す反応機構を有し、(1) 酵素-AMP 複合体の形成、(2) AMP 基の 5'-リン酸基への転移、(3) ホスホジエステ

を測定して追跡することができる。

還元型補酵素にはそのニコチンアミドの4位の炭素に2個の水素（プロ-Sとプロ-R）があり、これまでに知られている酵素は2個の水素のうち一方のみを選択的に基質に転移して図2.13に示す還元型を生成する。

〔2〕 フラビヌクレオチド

ビタミンB₂であるリポフラビンにリン酸が結合したフラビヌモノヌクレオチド（FMN）とアデノシン二リン酸が結合したフラビンアデニンジヌクレオチド（FAD）とがあり、オキシダーゼ、オキシゲナーゼ、デヒドロゲナーゼなどの酸化還元酵素の補酵素となっている。図2.14に示すイソアロキサジン環のN₁およびN₅に水素原子が付加するとリポフラビン（酸化型）はロイコフラビン（還元型）になる。

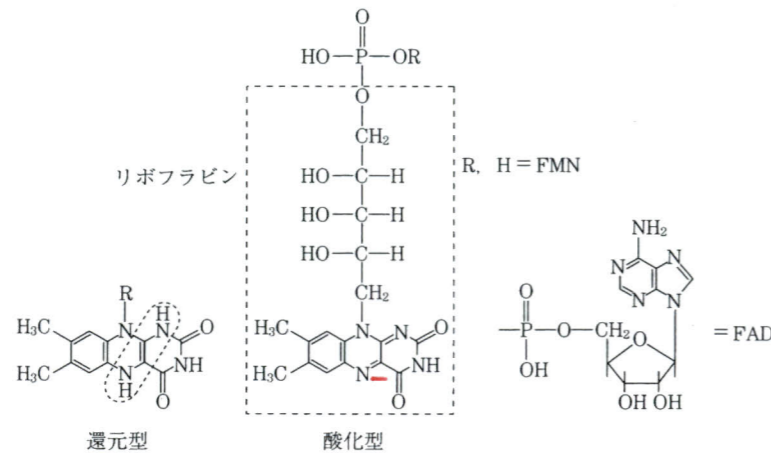


図2.14 フラビヌクレオチドの構造式

FMNやFADとアポ酵素の結合には、(1)共有結合しているもの、(2)強く結合しているが酸処理などによりアポ酵素から不可逆的に解離するもの、あるいは、(3)可逆的に解離しやすいもの、がある。

〔3〕 ピリドキサル5'-リン酸（PLP）

ビタミンB₆の一種であるピリドキサルがリン酸化されたピリドキサル

〔5〕 リポ酸

リポ酸はビタミンB群に属し、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体の一つの構成成分であるリポ酸トランスアセチラーゼなどの補酵素である。リポ酸は図2.17に示すとおり、アポ酵素のリシン残基の末端アミノ基と酸アミド結合で結合している。

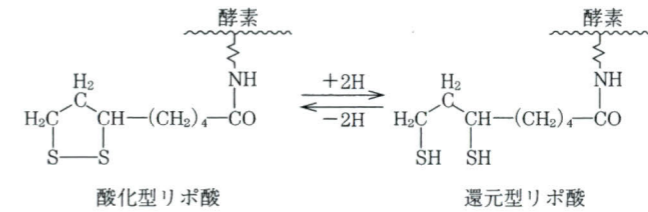


図2.17 リポ酸の構造式

〔6〕 チアミンピロリン酸（TPP）

ビタミンB₁（チアミン）のピロリン酸誘導体で、(1)α-ケト酸の脱炭酸反応、(2)α-ケト酸の酸化、(3)トランスケターゼ反応を触媒する酵素の補酵素である（図2.18）。

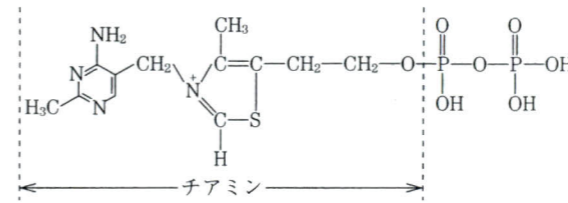


図2.18 TPPの構造式

〔7〕 テトラヒドロ葉酸（THF）

THFは図2.19に示すように、ビタミンB群の一種である葉酸のプテリジ

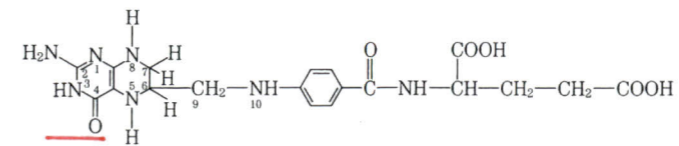


図2.19 THFの構造式

表 3.1 食品・飼料加工に利用される代表的な酵素と用途

EC 番号	酵素名	用途
酸化還元酵素		
1.1.3.4	グルコースオキシダーゼ	製パン, 醸造, 乳製品の加工
1.1.3.5	ヘキソースオキシダーゼ	製パン
1.11.1.6	カタラーゼ	醸造, 乳製品の加工
1.11.1.7	ペルオキシダーゼ	製パン, 乳製品の加工
1.13.11.12	リポオキシゲナーゼ	製パン
転移酵素		
2.3.2.13	トランスグルタミナーゼ	乳製品の加工
2.4.1.5	デキストランスクラーゼ	醸造
2.4.1.19	シクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼ (CGTase)	甘味料
加水分解素		
3.1.1.3	リパーゼ	製パン, 乳製品の加工
3.1.1.11	ペクチンメチルエステラーゼ	果汁加工
3.1.1.26	ガラクトリパーゼ	製パン
3.1.3.8, 26	フィターゼ	醸造, 飼料
3.2.1.1	α -アミラーゼ	製パン, 果汁加工, 醸造
3.2.1.2	β -アミラーゼ	醸造
3.2.1.3	グルコアミラーゼ	果汁, 醸造
3.2.1.4	セルラーゼ	醸造
3.2.1.6	エンド-1,3- β -グルカナーゼ	飼料
3.2.1.8	キシラナーゼ	製パン, 飼料
3.2.1.55	アラビノシダーゼ	果汁加工
3.2.1.60	グルカン-1,4-マルトテトラオヒドロラーゼ	製パン
3.4.21.62	サブチリシン	飼料
3.4.21.63	オリジン	飼料
3.4.22	システインエンドペプチダーゼ	醸造
3.4.23.4	キモシン	乳製品の加工
3.4.23.18	アスペルギロペプシン	飼料
3.4.23.22	エンドチアペプシン	乳製品の加工
3.4.23.23	ムコールペプシン	乳製品の加工
3.4.24.27	サーモライシン	甘味料
3.4.24.28	パチロリシン	飼料
リアーゼ		
4.1.1.5	α -アセトール酢酸デカルボキシラーゼ	醸造
4.2.2.10	ペクチンリアーゼ	果汁
異性化酵素		
5.3.1.5	グルコースイソメラーゼ (キシロースイソメラーゼ)	異性化糖
5.3.4.1	プロテインジスルフィドイソメラーゼ	その他

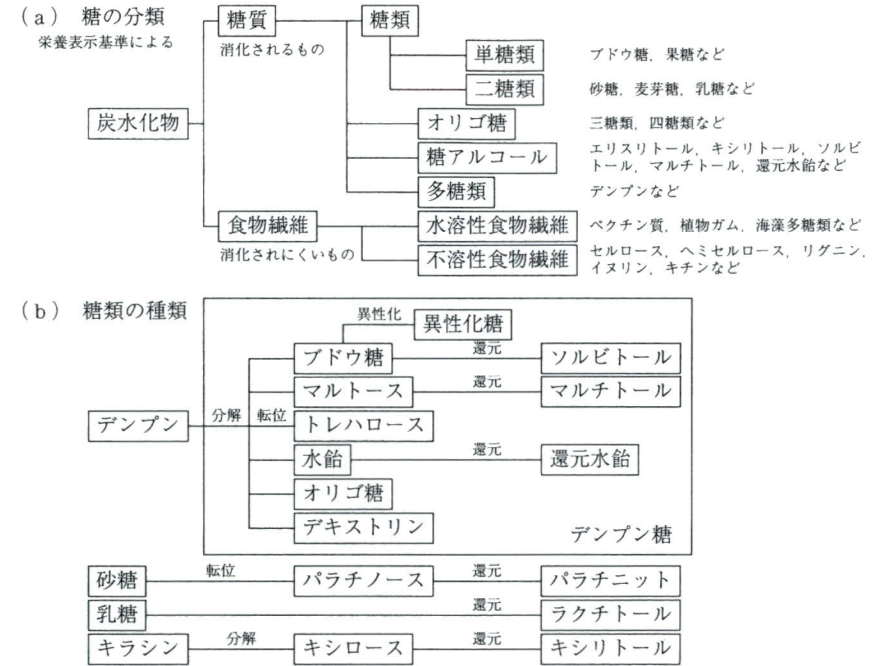


図 3.1 糖の分類と種類

を占め、それに必要なアミラーゼの研究が活発に行われ、その結果としてアミラーゼの応用、すなわちデンプン加工が圧倒的な地位を占めることとなった。

デンプンを酵素あるいは酸で分解し、さらに酵素反応を行うと、図 3.1 (b) に示すような多様なデンプン糖と呼ばれる生成物が得られる。これらは一様に水に溶け、程度の差こそあれ甘味をもつ。

デンプンの加水分解の度合いは世界共通の指標として DE で表示される。

DE とは Dextrose Equivalent の略称で、次式で表示される。

$$DE = (\text{グルコース/全固形分}) \times 100$$

〔1〕 水飴の製造

酵素の作用によって製造される水飴には、麦芽水飴とハイマルトースシロップがある。麦芽水飴は、麦芽の α -アミラーゼの作用でデンプンを液化するとともに、 β -アミラーゼの作用で糖化してできる。マルトースの含有用が多く、

適度な甘みを示すため、現在でも一定の需要がある。液化酵素で製造された水飴製品は、DE 10 前後の低い値を示す。

製造法の概略を述べる。まずデンプンを 30~40% (w/w) になるように水に懸濁したデンプン乳に、 α -アミラーゼを加えて 80~90°C に加熱する。この加温によりデンプンのミセルが破壊され糊化する。糊化と同時に α -アミラーゼが作用し、急速に粘度が下がるとともに、還元糖が生成する。この方法は上質のジャガイモデンプンやサツマイモデンプンからの製造には適するが、品質の低いイモ類のデンプンやトウモロコシなどの穀類デンプンは、90°C 前後の加熱では一部が未糊化のまま残り、これが液化されずに難溶性デンプンとして残り、製品が白濁し不透明となる。液化、糖化、糊化については枠内トピックスを参照のこと。

そこで、難溶性デンプンを分解して透明な製品をつくるためには、デンプンを初めから 100°C の高温で処理すれば完全な液化が起こり、トラブルは解消できる。このために、100°C 以上の高温でも失活しない α -アミラーゼの開発が進められ、*Bacillus licheniformis* 由来の耐熱性 α -アミラーゼが開発された。本酵素は、デンプン液化工程のジェットクッカーを用いた 100~105°C の条件下でも使用することができる。

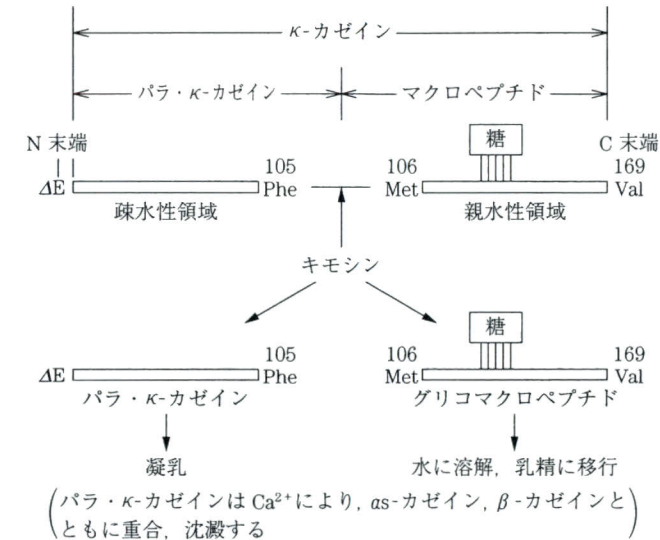
酵素の安定性と活性発現には Ca^{2+} が必要である。ほとんどのアミラーゼ剤にはカルシウム塩が添加されており、使用時に必要な塩濃度が保たれるようになっている。

〔2〕 ハイマルトースシロップ

液化酵素によるデンプン液化液に β -アミラーゼを加えて糖化したマルト-

液化・糖化・糊化

液化とは、高分子のデンプンが α -アミラーゼの作用で多糖ないしオリゴ糖に分解されること。糖化とは、液化したデンプンがグルコアミラーゼの作用でグルコース（ブドウ糖）になること。糊化とは、デンプンを水中に懸濁して加熱すると、デンプン粒が吸水して次第に膨張する。加熱を続けるとデンプン粒が崩壊して、最終的にゲル状になること。



〔注〕 ΔE : ピログルタミン酸 (N 末端で分子内環化)

図 3.5 キモシンによる牛乳凝固機構⁹⁾

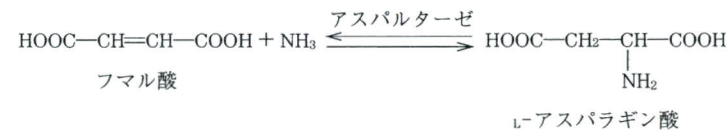
レンネットの代用酵素の開発が行われた結果、*Rhizomucor miehei*, *R. pusillus*, *Cryphonectria parasitica* などのかびから酵素が見出された。現在、これらの微生物から工業的に生産される酵素が、ウシのレンネット需要の大部分をカバーしている。さらに、仔ウシのキモシン B をコードする遺伝子を保持する麹菌や酵母 (*Kluyveromyces lactis*) などの組換え体微生物から製造された酵素も利用されている。表 3.5 に代表的な凝乳酵素の生化学的諸性質をまとめた。

レンネットの代用酵素として必要な条件は、カードの収率がレンネットと同じであること、タンパク質分解作用が凝乳作用に比べて弱いこと、生成したカードがレンネットによって生じたカードと物理的に同様な性質であること、ホ

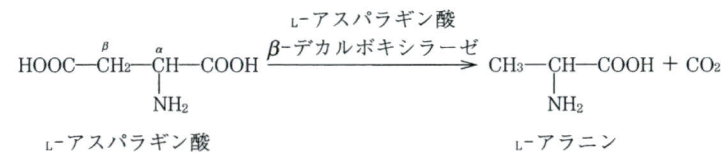
表 3.5 凝乳酵素の生化学的諸性質

酵 素	由 来	EC 番号	分子量 [kDa]	等電点	糖鎖	凝乳最適温度 [°C]
キモシン	ウシ	3.4.23.4	35.7	4.98	無	40~44
ムコールペプシン	<i>R. miehei</i>	3.4.23.23	38	4.58	有	58~62
ムコールペプシン	<i>R. pusillus</i>	3.4.23.23	30~39	4.41	有	42~45
エンドチアペプシン	<i>C. parasitica</i>	3.4.23.22	33.8	4.89	無	42

アンモニアを有機態のアミノ酸に変換する酵素として生化学的にも重要である。本酵素はアンモニアの脱離と付加を立体選択的に行うが、アスパラギン酸の合成・分解の平衡は、著しく合成方向に傾いている。大腸菌 K-12 株の変異株が高いアスパルターゼ活性を示すことが見出された。菌体を κ -カラギーナンで包括固定化したバイオリアクターや、弱塩基性陰イオン交換樹脂 Duolite A-7 にイオン結合させることにより固定化したアスパルターゼを用いることで、生産性の向上が図られた。



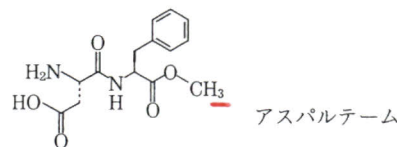
(b) **脱炭酸酵素** L-アスパラギン酸 β -デカルボキシラーゼは、L-アスパラギン酸の β -位のカルボキシル基を脱炭酸して L-アラニンを生産する酵素で、PLP を補酵素とする。



L-アラニンは医薬品としてはアミノ酸輸液の成分、またさわやかな甘みを呈

アスパルテーム

L-アスパラギン酸と L-フェニルアラニンのジペプチドのメチルエステルで、1983 年に食品添加物として認可された合成甘味料。ノンカロリーを謳う清涼飲料水など添加されている。サーモライシンの脱水縮合反応を利用して工業生産されている。以下にその化学式を示す。



しかし、生成したイノシンを加水分解する活性も併せもっているため、実用には適さない。そこで、分子進化工学的手法によって酵素の特異性の改変を試みた結果、アミノ酸を 2 残基置換することで、イノシン酸の脱リン酸化反応を劇的に抑制することが可能になり、工業生産に用いられている。

3.2.3 その他

微生物によって発酵生産される有機酸は約 60 種に及んでおり、それらは代謝産物として古くから人類の食生活と深くかかわってきた。有機酸のうちで、産業上の用途があり、微生物の酵素によって生産されているものは、現在ではリンゴ酸 (malic acid) のみである。フマラーゼを高生産する *Brevibacterium ammoniagenes* をポリアクリルアミドゲルで包括した固定化菌体や、*B. flavum* を κ -カラギーナンで固定化した固定化菌体触媒を用いて、フマル酸ナトリウムを連続的に流して L-リンゴ酸を製造する方法が工業化されている。

合成甘味料の **アスパルテーム** は、図 3.19 に示すとおり、安価に供給可能なラセミ体のフェニルアラニンメチルエステルとアスパラギン酸から、サーモライシンの立体特異的脱水縮合反応を用いて製造されている。未反応の D-フェニルアラニンメチルエステルはラセミ化されて、最終的には全量がアスパルテームになる。

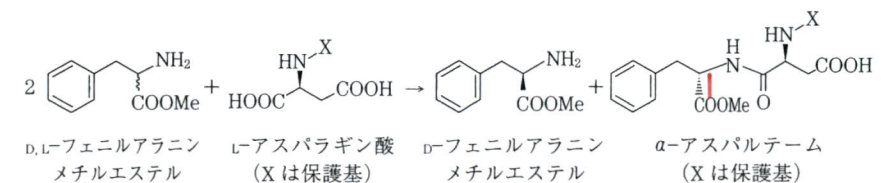


図 3.19 サーモライシンによるアスパルテームの合成

3.3 化学工業での利用

家庭用洗剤への添加剤や繊維加工、汎用化成品の合成プロセスなどの非食品加工分野においても、さまざまな酵素が広く利用されている。これらの分野で

ルと平行して変動することが多い。血清中のリン脂質はレシチン（ホスファチジルコリン）、スフィンゴミエリン、セファリン（ホスファチジルエタノールアミン）、リゾレシチン（リゾホスファチジルコリン）からなる。血清リン脂質の定量は、ホスホリパーゼDを用いてコリンを遊離させ、コリンオキシダーゼを作用させて生成する過酸化水素を測定する。

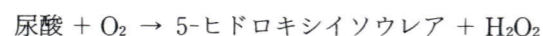
〔4〕 遊離脂肪酸

血清中のエステル化されていない脂肪酸を遊離脂肪酸という。アルブミンと結合して血清中に存在し、抹消組織のエネルギー源となっている。糖尿病、肝障害、甲状腺機能亢進症などの疾患で上昇する。血清中の遊離脂肪酸の組成は、オレイン酸（29%）、パルミチン酸（25%）、リノール酸（17%）、ステアリン酸（13%）、アラキドン酸（7%）、パルミトオレイン酸（6%）、ミリスチン酸（3%）である。アシル CoA シンターゼとアシル CoA オキシダーゼを用いる方法が用いられている。



〔5〕 尿酸

尿酸は核酸の主成分であるプリン最終代謝産物である。その生成はプリン体を含む食事の摂取、また、核酸合成系のプリンヌクレオチドの生合成系を経て合成される。尿酸の溶解度は低く、尿酸オキシダーゼをもつ動物ではアラントインとなり溶けやすくなるが、ヒトではこの酵素がないので、高濃度になると関節腔、組織に沈着し、通風結節や痛風腎を引き起こす。酵素法では、尿酸オキシダーゼを作用させ、生成する過酸化水素を定量する。



〔6〕 クレアチン・クレアチニン

血中クレアチニン含量は腎機能を診断するうえで重要な指標である。図 3.33 に示すように、クレアチニンにクレアチナーゼ、クレアチナーゼ、サルコシンオキシダーゼを連続的に作用させ、生成した過酸化水素をペルオキシダーゼによって呈色する。同様の方法を用いてクレアチンの定量も可能である。

〔8〕 マグネシウム

マグネシウムイオンは主に腎疾患の診断を目的に測定される。ATP を利用するリン酸転移酵素が ATP・Mg 複合体を形成して活性を示すことを利用し、グルコースを基質として、ヘキソキナーゼやグルコキナーゼによって生成するグルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼとの共役反応によって生成する NADPH の 340 nm における吸光度の増加を測定する（図 3.35）。

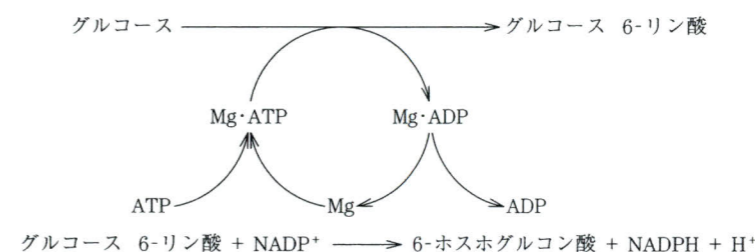


図 3.35 マグネシウムイオンの酵素測定法¹²⁾

3.4.2 酵素活性の定量

臨床検査項目に挙げられている表 3.16 に示した酵素活性の測定にも酵素法が用いられている。これらの酵素の多くは、臓器損傷によって細胞から血液中に逸脱した酵素が多い。血中アスパラギン酸トランスアミナーゼ（AST）、アラントトランスアミナーゼ（ALT）の増加は、肝炎や虚血などによる肝細胞の損傷や細胞膜透過性の亢進に由来し、細胞中のこれら酵素が血中に逸脱、遊

表 3.16 酵素活性測定に用いられる基質（浦山 修 他：臨床検査学講座 臨床化学検査学 第2版，医歯薬出版（2006）より転載）

臨床酵素	分類(酸化還元/転移/加水分解)	活性測定に利用可能な基質
LD (LDH)	酸化還元	乳酸またはビルビン酸
AST	転移	L-アスパラギン酸と2-オキソグルタル酸またはオキサロ酢酸とL-グルタミン酸
ALT	転移	L-アラニンと2-オキソグルタル酸またはビルビン酸とL-グルタミン酸
CK	転移	クレアチンリン酸またはクレアチン
γ-GTP	転移	γ-グルタミルペプチド（基質は多数存在）
ALP	加水分解	有機リン酸モノエステル（基質は多数存在）
AcP	加水分解	有機リン酸モノエステル（基質は多数存在）
LAP	加水分解	L-ロイシルペプチド（基質は多数存在）
AMY	加水分解	デンプンやオリゴ糖（基質は多数存在）
ChE	加水分解	コリンエステル（基質は多数存在）

出することによる。心筋梗塞は、冠動脈塞栓による虚血の結果、心筋の変性・壊死をもたらす虚血性心疾患であり、心筋に豊富なクレアチンキナーゼ (CK) を測定すれば心筋梗塞の大きさを推定できる。アミラーゼ (AMY) やリパーゼの膵管閉塞時の血中増加は酵素の排泄障害と考えられている。また、血中阻害物質による低値は、ゴキブリ駆除による検査容器の汚染や有機リン中毒による血清コリンエステラーゼ (ChE) の低値が知られており、ハウス農薬の中毒発見や地下鉄サリン事件の原因を特定する糸口となった。

血中酵素活性の測定で注意しなければならないのは、測定環境によって値が異なるので、標準化が必要である点である。特に、基質の種類はきわめて重要である。一般に加水分解酵素 (アルカリ性ホスファターゼ (ALP), γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ-GTP), AMY, ChE) は特異性が低く、種々の合成基質と反応する。基質によっては 100 倍以上の差が出ることもまれではなく、安定で、類似酵素の影響が少なく、活性の検出が容易なものが選択される。

[1] アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST)

旧称グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) で、血清 AST は肝障害、心筋梗塞時に上昇する。AST はピリドキサルリン酸を補酵素とし、L-アスパラギン酸と 2-オキソグルタル酸の間のアミノ基転移反応を触媒

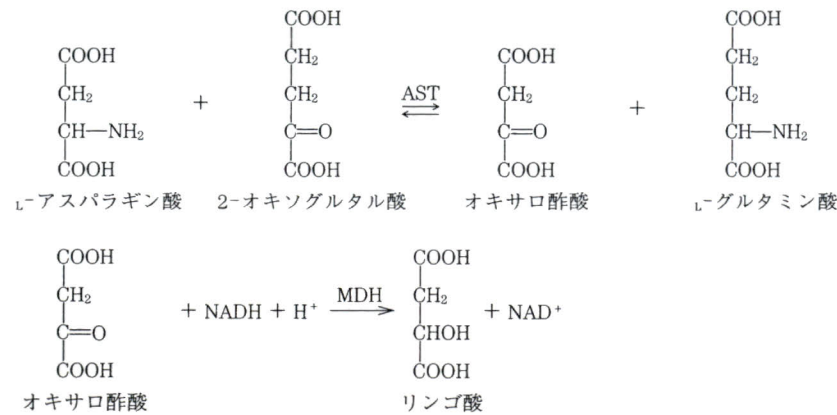


図 3.36 AST 活性測定法の原理

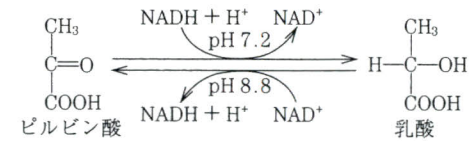


図 3.38 LDH 活性測定法の原理

るものをいう。ALP は植物には存在しないが、大腸菌からヒトまで広く分布しており、生命現象の基本にかかわると推定されているが、生体内での真の役割や代謝などについては不明なところが多い。一般的に肝胆道系疾患や骨疾患などの指標とされる。アイソザイムが少なくとも 4 種類存在し、臓器非特異型 (肝、骨、腎、肺など)、小腸型、胎盤型、胎盤様型に分類され、それぞれのアイソザイムによって至適 pH が異なる。測定には、4-ニトロフェニルリン酸を基質として用い、生成する 4-ニトロフェノールを A₄₀₅ で測定する。反応に使用する緩衝液の種類によってアイソザイム間の相対活性値が大きく異なる。

[5] γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ-GTP)

γ-グルタミルペプチドと呼ばれる N 末端のグルタミン酸が γ-カルボキシル基を介して他のアミノ酸とペプチド結合しているペプチドの、γ-カルボキシル基を他のアミノ酸またはペプチドに転移する働きをもつ。γ-GTP の生体内での作用は、グルタチオンの代謝・輸送に関与している。血清 γ-GTP は、アルコール性肝障害によって上昇する。活性測定は図 3.39 に示すとおり、γ-グル

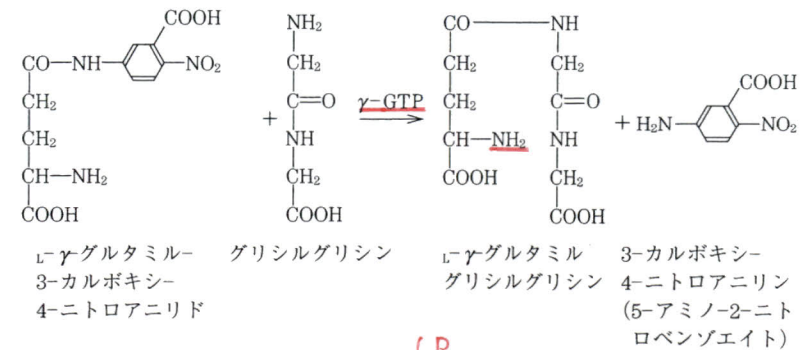


図 3.39 γ-GTP 活性測定法の原理

たはサブユニット構造の違いによって分類した代表的な II 型制限酵素を表 3.18 に示した。異なる菌株から同一配列を認識する酵素が単離されている場合、それらの酵素をイソシゾマー (isoschizomer) と呼ぶ。同一配列を認識する酵素でも、切断位置が異なる酵素をネオシゾマー (neoschizomer) と呼んで区別することがある。

表 3.18 作用機構とサブユニット構造に基づく II 型制限酵素の分類

分類	特徴	酵素名	特異性
A	非対称配列を認識する	AciI	CCGC(-3/-1)
B	認識配列の両側を切断	BcgI	(10/12)CGANNNNNNT GC(12/10)
C	制限酵素とメチラーゼが同一ペプチド上に存在	GsuI	CTGGAG(16/14)
E	2 箇所の認識配列を必要とし、片方を切断	EcoRII	↓CC(A/T)GG
F	2 箇所の認識配列を必要とし、両方を切断	SfiI	GGCCNNNN↓NGGCC
G	AdoMet で活性化	Eco57I	CTGAAG(16/14)
H	認識配列結合サブユニットが必要	AhdI	GACNNN↓NNGTC
M	メチル化 DNA を特異的に切断	DpnI	Gm6A↓TC
P	対称配列を認識	EcoRI	G↓AATTC
S	非対称配列を認識して認識配列の外側を切断	FokI	GGATG(9/13)
T	ヘテロダイマーで作用	Bpu10I	CCTNAGC(-5/-2)

[注] 切断位置が認識配列の内側にあるときは↓で示した。外側にあるときは、表示した認識配列の末端塩基からの距離を括弧内に示した。-は 5' 方向を示している。
AdoMet: S-アデノシル-L-メチオニン

制限酵素で切断する DNA は研究者が個々に精製したものをを用いるので、DNA の純度によっては切断できなかつたり、予想どおりの切断パターンを示さない場合もある。このような場合、以下の 3 点を考慮する必要がある。

(1) メチル化の影響

制限酵素は、同一菌体中に生産され制限酵素と同じ配列を認識するメチラーゼによってメチル化された配列は切断しないが、他のメチラーゼでメチル化された配列でも切断できない場合がある。イソシゾマーでも認識配列中のメチル化塩基の位置と種類によって、切断活性を示すものと示さないものがある。メチル化される塩基の種類は 2 章 (表 2.2) にまとめられている。p.162 枠内トピックスに示す制限修飾系以外のメチラーゼとして dam メチラーゼと dcm メチラーゼが知られており、遺伝子組換えの宿主として用いられる大腸菌は、dam および dcm 遺伝子産物によ

てそれぞれ GATC のアデニンと CC(A/T)GG の内側のシトシンの 5 位をメチル化する。したがって、組換え体大腸菌から調製したプラスミドを切断する際にはこの点に注意する必要がある。また、T4 ファージ DNA では、シトシンの 5 位がグリコシルヒドロキシメチル化されており、ほとんどの制限酵素では切断できない。

(2) 酵素の純度

多くの制限酵素遺伝子がクローニングされており、組換え体から精製されているが、タンパク質の純度としては均一ではなく、夾雑する他のヌクレアーゼやホスファターゼ活性が実用上問題にはならない程度の純度に精製された標品が市販されている。したがって、過剰量の制限酵素を添加して反応を行うことは避けたほうがよい。

(3) 認識特異性の緩み

標準的な反応条件から外れた条件、例えば高 pH、高グリセロール存在下、高ジメチルスルホキシド (DMSO) 存在下、高エタノール存在下な

制限修飾系 (restriction-modification system)

細菌には、ファージやプラスミドなどの外来 DNA が侵入したとき、外来 DNA を特異的に切断して、その複製を妨げる働きをする制限酵素が存在する。一方、細菌自身のゲノムは、自己の制限酵素で切断されないように修飾メチルトランスフェラーゼ (修飾酵素) によって修飾 (メチル化) して保護している。

1960 年代にアルパー (W. Arber) は、大腸菌 K12 株を宿主として増殖させた λ ファージを大腸菌 K (P1) 株に感染させると、その感染効率が低下する現象を見出した。彼は、DNA 分解酵素が存在すると考え、「ファージ受容性の制限」に関与していることから制限酵素と命名した。その後、1970 年にスミス (H.O. Smith) らは、二本鎖 DNA の特異的塩基配列を認識して切断する制限酵素を *Haemophilus influenzae* から初めて単離した。

制限酵素と修飾酵素から構成される細菌の自己防御機構を、「制限修飾系」と呼ぶ。制限酵素と修飾酵素の遺伝子はゲノム上で隣どうしかきわめて近傍にクラスターを形成している。制限酵素と修飾酵素は同じ配列を認識するにもかかわらず、一次構造の相同性はほとんどない。

どで制限酵素を過剰量添加すると、本来の認識配列とは1塩基以上異なる配列を認識切断する活性を示すことが多くの制限酵素で報告されている。このような認識特異性の緩みが改善された変異酵素が最近開発された。

〔2〕 ホーミングエンドヌクレアーゼ

制限酵素と同様に二本鎖 DNA を特異的に切断するエンドヌクレアーゼとして、**ホーミングエンドヌクレアーゼ**をコードする遺伝子が微生物のゲノム上に数多く見出されている。ホーミングエンドヌクレアーゼは制限酵素より認識配列が長く(12~40塩基対)、配列中の1塩基を置換してもまったく切断されなくなるのではなく切断効率が低下することから、制限酵素ほど厳密に配列を認識しないという特徴がある。表3.19に示すような、単細胞藻類、酵母、超好熱古細菌の該当する遺伝子を大腸菌で発現させた組換え体酵素が市販されている。制限酵素を含めたエンドヌクレアーゼに関する情報は、データベース(REBASE: <http://rebase.neb.com>) に詳しくまとめられているので参照されたい。

表3.19 代表的なホーミングエンドヌクレアーゼ

酵素名	由来	特異性
I-CeuI	<i>Clamydomonas eugametos</i>	<u>TA</u> ACTATAACGGT <u>TCCTA</u> AGGTAGCGAA (-9/-13)
I-SceI	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	TAGGGATAACAGGGTAAT (-9/-13)
PI-PspI	<i>Pyrococcus</i> sp. GB-D	TGGCAAACAGCTATTATGGGTATTATGGGT (-13/-17)
PI-SceI	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCTATGTCGGGTGCGGAGAAAGAGGTAA TGAAATGG (-22/-26)

〔注〕 切断位置は表示した認識配列の末端塩基からの距離(-は5'方向)を括弧内に示した。

〔3〕 DNA ポリメラーゼ

DNA ポリメラーゼはdNTPを基質として用い5'→3'の方向に伸長反応を行う酵素の総称で、表3.20に代表的な酵素を示した。大腸菌のDNAポリメラーゼIは二つのドメインから構成されており、タンパク質分解酵素であるサブチリシンを作用させることによって、N末端側の5'→3'エキソヌクレアーゼ活性ドメインとC末端側ドメインに切断される。5'→3'ポリメラーゼ活性

表3.20 遺伝子工学に用いられる酵素

酵素	由来	用途
DNA ポリメラーゼ		
DNA ポリメラーゼI	<i>E. coli</i>	ニックトランスレーション
Klenow フラグメント	<i>E. coli</i>	DNA シーケンス (ダイデオキシ法) ランダムプライマーを用いた DNA 標識 二本鎖 DNA の平滑化 二本鎖 DNA の平滑化 3'→5'エキソヌクレアーゼを利用した DNA フラグメントの3'末端からの標識 cDNA の合成
T4 DNA ポリメラーゼ	T4 ファージ	RT-PCR
逆転写酵素	AMV (トリ myelo-blastosis ウイルス) MoMuLV (モロニーマウス白血病ウイルス)	DNA の3'末端標識 二本鎖 DNA 3'末端へのホモポリマーの付加
ターミナルデオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ	ウシ胸腺	PCR
耐熱性 DNA ポリメラーゼ	<i>Thermus aquaticus</i> <i>Thermus brockianus</i> <i>Thermus thermophilus</i> <i>Pyrococcus furiosus</i> <i>Thermococcus litoralis</i> <i>Thermococcus kodakarensis</i> KOD1	
RNA ポリメラーゼ		
T7 RNA ポリメラーゼ	T7 ファージ	高標識 RNA プロープの作成
SP6 RNA ポリメラーゼ	SP6 ファージ	二本鎖 RNA の合成, 高標識 RNA プロープの作成
ポリ(A)ポリメラーゼ	<i>E. coli</i>	RNA へのポリ(A)の付加, RNA の3'末端標識
ヌクレアーゼ		
S1 ヌクレアーゼ	麹菌	ハイブリダイゼーションのマッピング (S1 マッピング)
ナタマメヌクレアーゼ	ナタマメ (mung bean)	二本鎖 DNA 末端の平滑化 ハイブリダイゼーションのマッピング (S1 マッピング)
ヌクレアーゼ BAL31	<i>Alteromonas espejiana</i> BAL31	DNA フラグメントの両末端からの限定分解
DNaseI	ウシ臍臓	ニックトランスレーション DNaseI フットプリンティング RNA サンプルからの DNA の除去 反応液からの ssDNA の除去 DNA 断片の定方向性欠失の作成
エキソヌクレアーゼ I	<i>E. coli</i>	ヌクレオソーム調製のためのクロマチンの消化
エキソヌクレアーゼ III	<i>E. coli</i>	DNA-RNA ハイブリッドの RNA 鎖の分解
マイクロコッカスヌクレアーゼ	<i>Streptococcus aureus</i>	ゲノム DNA サンプルからの RNA の除去
RNaseH	<i>E. coli</i>	
RNaseA	ウシ臍臓	
その他		
アルカリ性ホスファターゼ	ウシ小腸, <i>E. coli</i>	DNA 5'末端リン酸基の除去
DNA リガーゼ	T4 ファージ, <i>E. coli</i>	DNA 断片の連結
RNA リガーゼ	T4 ファージ	二本鎖 RNA と二本鎖 RNA の連結
ポリヌクレオチドキナーゼ	T4 ファージ	DNA および RNA の5'末端標識 合成リンカーの5'末端リン酸化

と3'→5'エキソヌクレアーゼ活性だけをもつC末端側ドメインをKlenowフラグメントと呼ぶ。大腸菌およびT4ファージ由来のDNAポリメラーゼは高温で不安定なため、自動化PCRに使用できないので、高温菌や超高温古細菌から単離された耐熱性DNAポリメラーゼがPCRに用いられている。PCRに用いられる酵素標品には微量のエキソヌクレアーゼが添加されているものや、分子工学を用いて野生型とは異なる酵素機能が付与されているものがあり、間違った塩基の取込率や増幅されたDNA断片の末端の形状が異なるので、使用目的に合わせて選択する必要がある。

表3.21に示したRNAポリメラーゼ、ヌクレアーゼ、DNA修飾酵素の反応については、本書2章に詳しく述べてあるので参照されたい。

3.6.2 タンパク質の解析

タンパク質の一次構造の解析には特異的な位置で切断するプロテアーゼが用いられる。代表的なプロテアーゼを表3.21にまとめた。凝固因子Xaはウシ

表3.21 タンパク質の解析に用いられる酵素

酵素名	EC番号	由来	特異性
トリプシン	3.4.21.4	ウシ膵臓	ArgとLysのC末端側
カルボキシペプチダーゼP	3.4.16.5	<i>Penicillium janthinellum</i>	C末端側から順次遊離
凝固因子Xa	3.4.21.6	ウシ血漿	Ile-Glu/Asp-Gly-Arg配列のC末端側
N-アシルアミノアシルペプチドハイドロラーゼ	3.4.19.1	ブタ肝臓	N末端がアシル化された30アミノ酸残基までのペプチドからN-アシルアミノ酸を遊離
ピログルタメートアミノペプチダーゼ		<i>Pyrococcus furiosus</i>	N末端がピログルタミル化されたペプチドおよびタンパク質からピログルタミン酸を遊離
メチオニンアミノペプチダーゼ		<i>Pyrococcus furiosus</i>	N末端がメチオニンであるペプチドおよびタンパク質からメチオニンを遊離
アスパラギニルエンドペプチダーゼ		<i>Pyrococcus furiosus</i>	AspのC末端側
アルギニルエンドペプチダーゼ		<i>Pyrococcus furiosus</i>	ArgのC末端側
V8プロテアーゼ	3.4.21.19	<i>Staphylococcus aureus</i> V8	AspとGluのC末端側

血漿由来のプロテアーゼで、ラッセルクサリヘビ毒によって活性化されている。認識特異性が非常に厳密なので、タグを付加した組換え体タンパク質からタグを除去する際に使用される。

3.6.3 その他

プロテイナーゼK (Proteinase K) は真菌 *Tritirachium album* 由来の強力なセリンプロテアーゼで、未変性および変性タンパク質、糖タンパク質、ペプチド、アミノ酸エステルに対して広い切断活性をもち、SDS (1%) が存在する場合や高温 (37~56°C) で活性が上昇するという特徴をもつことから、DNAおよびRNAの精製の際、タンパク質を除去する目的で用いられる。

ザイモリアーゼ (Zymolyase) は細菌 *Arthrobacter luteus* の培養上清から得られる酵素混合物で、エンド型β-1,3グルカナーゼ活性の他、複数のプロテアーゼ活性とマンナーゼ活性を含む。真菌類、特に酵母の細胞壁を分解し、スフェロプラストの調製に用いられる。

3.7 環境保全への利用

これまでも述べたように、有害物質を触媒として用い、高温・高圧などに代表される過激で高エネルギーを必要とする化学プロセスに対し、酵素は温和な条件で効率的に作用し、しかも特異的で副反応が少ないという特長がある。環境汚染や資源荒廃などが世界的に顕在化し、環境問題への意識が高まっている今日、環境調和型テクノロジーとしてのバイオプロセスは、これまで以上に関心をもたれ受け入れられやすくなっている。さらに、環境保全やエネルギー対策分野に酵素や微生物をはじめとする生物を積極的に利用する研究が、国家プロジェクトとして世界各国で進められている。

3.7.1 有害物質の分解除去

3.3.3項で述べたように、紙・パルプ工業において漂白に用いられている塩素系化合物の代わりにキシラナーゼを用いるなど、化学的な製造プロセスに酵

付録 EC 番号別酵素

EC	慣用名	略語
EC1 酸化還元酵素		
EC 1.1.1.1	アルコールデヒドロゲナーゼ	ADH
EC 1.1.1.2	アルコールデヒドロゲナーゼ (NADP ⁺)	ADH
EC 1.1.1.27	L-乳酸デヒドロゲナーゼ	LDH
EC 1.1.1.28	D-乳酸デヒドロゲナーゼ	LDH
EC 1.1.1.37	リンゴ酸デヒドロゲナーゼ	MDH
EC 1.1.1.47	グルコースデヒドロゲナーゼ	GDH
EC 1.1.1.49	グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ	G-6 PDH
EC 1.1.1.184	カルボニル還元酵素	
EC 1.1.3.4	グルコースオキシダーゼ	GOD
EC 1.1.3.5	ヘキサースオキシダーゼ	
EC 1.1.3.6	コレステロールオキシダーゼ	
EC 1.1.3.17	コリンオキシダーゼ	
EC 1.1.3.21	グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ	GPO
EC 1.1.5.2	キノプロテイン グルコースデヒドロゲナーゼ	PQQ-GDH
EC 1.2.1.2	ギ酸デヒドロゲナーゼ	FDH
EC 1.3.3.6	アシル CoA オキシダーゼ	
EC 1.4.1.2~4	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ	
EC 1.4.1.9	ロイシンデヒドロゲナーゼ	
EC 1.4.1.20	フェニルアラニンデヒドロゲナーゼ	
EC 1.4.3.2	L-アミノ酸オキシダーゼ	
EC 1.4.3.3	D-アミノ酸オキシダーゼ	
EC 1.4.3.群	アミノオキシダーゼ	
EC 1.5.3.1	ザルコシンオキシダーゼ	
EC 1.7.3.3	尿酸オキシダーゼ (ウリカーゼ)	
EC 1.8.3.3	グルタチオンオキシダーゼ	
EC 1.10.3.2	ラッカーゼ	Lac
EC 1.11.1.6	カタラーゼ	
EC 1.11.1.7	ペルオキシダーゼ	POD
EC 1.11.1.13	マンガンペルオキシダーゼ	MnP
EC 1.11.1.14	リグニンペルオキシダーゼ	Lip
EC 1.13.11.12	リポオキシゲナーゼ	
EC 1.14.13.2	α-ヒドロキシベンゾエイトヒドロキシラーゼ	
EC 1.15.1.1	スーパーオキシジスムターゼ	SOD
EC 1.17.3.2	キサントニンオキシダーゼ	
EC2 転移酵素		
EC 2.1.1.37,72,113	DNA メチルトランスフェラーゼ	MTase
EC 2.3.2.2	γ-グルタミルトランスペプチダーゼ	γ-GTP
EC 2.3.2.13	トランスグルタミナーゼ (凝固因子 XIIIa)	TGase
EC 2.4.1.1	アミロホスホリラーゼ	
EC 2.4.1.5	デキストランスクラーゼ	
EC 2.4.1.18	デンプン枝付き酵素	

EC	慣用名	略語
EC 2.4.1.19	シクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼ	CGTase
EC 2.4.2.1	プリンヌクレオチドホスホリラーゼ	
EC 2.4.2.2	ピリミジンヌクレオチドホスホリラーゼ	
EC 2.6.1.1	アスパラギン酸トランスアミナーゼ (グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ)	AST (GOT)
EC 2.6.1.2	アラニントランスアミナーゼ	ALT
EC 2.6.1.19	γ-アミノ酪酸トランスアミナーゼ	
EC 2.7.1.1	ヘキソキナーゼ	HxK
EC 2.7.1.2	グルコキナーゼ	
EC 2.7.1.30	グリセロールキナーゼ	GK
EC 2.7.1.73	イノシンキナーゼ	
EC 2.7.1.78	ポリヌクレオチドキナーゼ	PNK
EC 2.7.3.2	クレアチンキナーゼ	CK
EC 2.7.7.6	DNA 依存 RNA ポリメラーゼ	
EC 2.7.7.7	DNA 依存 DNA ポリメラーゼ	
EC 2.7.7.31	ターミナルデオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ	TdT
EC 2.7.7.49	RNA 依存 DNA ポリメラーゼ (逆転写酵素)	
EC3 加水分解酵素		
EC 3.1.1.3	リパーゼ	
EC 3.1.1.4	ホスホリパーゼ A2	
EC 3.1.1.5	ホスホリパーゼ B	
EC 3.1.1.7	アセチルコリンエステラーゼ	
EC 3.1.1.8	コリンエステラーゼ	ChE
EC 3.1.1.11	ベクチンメチルエステラーゼ	
EC 3.1.1.13	コレステロールエステラーゼ	
EC 3.1.1.20	タンナーゼ	
EC 3.1.1.25	ラクトナーゼ	
EC 3.1.1.26	ガラクトリパーゼ	
EC 3.1.1.34	リポプロテインリパーゼ	LPL
EC 3.1.1.32	ホスホリパーゼ A1	
EC 3.1.3	ホスファターゼ	
EC 3.1.3.2	酸性ホスファターゼ	AcP
EC 3.1.3.8,26,72	フィターゼ	
EC 3.1.4.3	ホスホリパーゼ C	
EC 3.1.4.4	ホスホリパーゼ D	
EC 3.1.6.12	アリルスルファターゼ B	
EC 3.1.11.2	エキソヌクレアーゼ III	
EC 3.1.11.3	λ エキソヌクレアーゼ	
EC 3.1.21.1	デオキシリボヌクレアーゼ I (ドルナーゼ α)	DNaseI
EC 3.1.21.3-5	制限酵素	REase
EC 3.1.26.4	リボヌクレアーゼ H	RNaseH
EC 3.1.27.5	リボヌクレアーゼ A	RNaseA
EC 3.1.30.1	ヘビ毒エキソヌクレアーゼ, ナタマメヌクレアーゼ ヌクレアーゼ BAL31, ヌクレアーゼ P1, S1 ヌクレアーゼ	
EC 3.2.1.1	α-アミラーゼ	AMY
EC 3.2.1.2	β-アミラーゼ	
EC 3.2.1.3	グルコアミラーゼ	
EC 3.2.1.4	エンド-1,4-β-グルカナーゼ (セルラーゼ)	

175 頁

2016 年 1 月 14 日

更新 45 回

OUYOFURO-77 応用酵素学概論/付録 p.174~178

174 頁

2016 年 1 月 14 日

更新 45 回

OUYOFURO-77 応用酵素学概論/付録 p.174~178

コロナ社

EC	慣用名	略語
EC 3.2.1.6	エンド-1,3-β-グルカナーゼ	
EC 3.2.1.7	イヌリナーゼ (イヌラーゼ)	
EC 3.2.1.8, 32, 72, 156, 136	キシラナーゼ	
EC 3.2.1.11	デキストラナーゼ	
EC 3.2.1.14	キチナーゼ	
EC 3.2.1.15	ベクチナーゼ (ポリガラクトツロナーゼ)	
EC 3.2.1.17	リゾチーム	
EC 3.2.1.20	α-グルコシダーゼ (マルターゼ)	
EC 3.2.1.21	β-グルコシダーゼ (セロビアーゼ)	
EC 3.2.1.22	α-ガラクトシダーゼ (メリビアーゼ)	
EC 3.2.1.23	β-ガラクトシダーゼ (ラクターゼ)	
EC 3.2.1.26	β-フルクトシダーゼ (インベルターゼ, サッカラーゼ)	
EC 3.2.1.35	ヒアルロニダーゼ	
EC 3.2.1.40	ラムノシダーゼ	
EC 3.2.1.41	ブルラナーゼ	
EC 3.2.1.45	β-グルコセレブロシダーゼ	
EC 3.2.1.55	アラビノシダーゼ	
EC 3.2.1.59	ムタナーゼ	
EC 3.2.1.60	グルカン-1,4-マルトテトラオヒドロラーゼ	
EC 3.2.1.65	レバナナーゼ	
EC 3.2.1.67	エキソポリガラクトツロナーゼ	
EC 3.2.1.68	イソアミラーゼ	
EC 3.2.1.76	イズロニダーゼ	
EC 3.2.1.78, 101, 100, 25, 113	マンナーゼ	
EC 3.2.1.89, 145, 23	ガラクタナーゼ	
EC 3.2.1.91	アビセラナーゼ (エキソセロビオヒドロラーゼ)	
EC 3.2.1.99	アラバナナーゼ	
EC 3.2.1.132	キトサナーゼ	
EC 3.2.1.133	マルトジェニックアミラーゼ	
EC 3.2.1.141	マルトオリゴシルトレハローストレハロヒドロラーゼ	MTHase
EC 3.2.1.23, 40	ナリンジナーゼ	
EC 3.2.2群	ヌクレオシダーゼ	
EC 3.4.11.1	ロイシンアミノペプチダーゼ	LAP
EC 3.4.16.5	カルボキシペプチダーゼ C, Y	
EC 3.4.17.1	カルボキシペプチダーゼ A	
EC 3.4.17.2	カルボキシペプチダーゼ B	
EC 3.4.19.1	アシルアミノアシルペプチダーゼ	
EC 3.4.21.1	キモトリプシン	
EC 3.4.21.4	トリプシン	
EC 3.4.21.5	α-トロンピン (フィブリノゲナーゼ)	
EC 3.4.21.6	凝固因子 Xa	
EC 3.4.21.7	プラスミン (フィブリノリシン, フィブリナーゼ)	
EC 3.4.21.19	V8プロテアーゼ	
EC 3.4.21.21	凝固因子 VIIa	
EC 3.2.21.22	凝固因子 IXa	
EC 3.4.21.34	カリクレイン	

グルコースオキシダーゼ (GOD) 26, 147
 グルコースデヒドロゲナーゼ (GDH) 25
 グルタチオン 72, 142
 グルタチオンシンターゼ 66
 グルタミン酸デヒドロゲナーゼ 27

【け】

系統名 23
 結晶化 1, 15, 43, 56
 限界デキストリン 33
 限外濾過 13, 19

【こ】

光学活性アルコール 24, 25, 129
 光学分割 57
 麹菌 1, 94, 150
 構成的変異株 7
 合成反応 61
 酵素標識 150
 酵素法 102
 酵素免疫検定法 (EIA) 149
 酵母 1, 5
 コエンザイム B₁₂ 72
 コエンザイム Q (CoQ) 73
 糊化 3, 77
 固定化 6, 16, 103, 106, 107, 147
 固定化酵素 16, 78
 コラゲナーゼ 50
 コリンエステラーゼ (ChE) 142
 コレステロール 135
 コレステロールエステラーゼ 53
 コレステロールオキシダーゼ 26

【き】

ザイモリアーゼ 166
 サブチリシン 49, 112
 サーマライシン 50
 酸化還元酵素 74

【し】

シクロデキストリン 81
 シクロマルトデキストリン
 グルカノトランスフェラーゼ (CGTase) 35
 シス-トランスイソメラーゼ 64
 シッフ塩基 35, 70
 消炎酵素剤 157
 消化酵素 12, 52, 151
 醤油 87
 初速度法 133
 シンターゼ 65

【す】

スクリーニング 4

【せ】

制限酵素 56, 160
 制限修飾系 32, 162
 清酒 93
 製パン 3, 97
 西洋ワサビ 30
 セラチオペプチダーゼ 157
 セリンプロテアーゼ 48
 セルラーゼ 40, 114, 170, 172

【た】

セルロース 40, 114
 洗剤用酵素 111

【た】

タカジアスターゼ 2, 55, 150
 多機能酵素 60, 61, 63
 脱水素酵素 24

ターミナルデオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ (TdT) 38
 担体結合法 17
 タンナーゼ 59

【ち】

チアミン 71
 チアミンピロリン酸 (TPP) 71
 チモーゲン 47
 中性脂肪 136

【て】

定方向進化 20
 呈味性 88, 108
 デキストラナーゼ 44
 デキストラン 44
 テトラヒドロ葉酸 (THF) 71
 転移酵素 74
 デンプン 2, 74
 デンプン枝切り酵素 34

【と】

糖化 77, 78, 93
 糖質分解酵素 39
 透析 13
 突然変異導入 7
 トランスアミナーゼ 35
 トランスグルタミナーゼ 33, 86
 トリアシルグリセロール (TAG) 51, 136
 トリプシン 48, 111
 トリプトファンナーゼ 61
 トリプトファンシンターゼ 62

【な】

トレハロース 81
 ナタマメスクレアーゼ 55

【に】

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD⁺) 68
 ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADP⁺) 68
 ニコチンアミドヌクレオチド 68
 ニコチン酸アミド 127
 二相系 19, 130
 ニトリルヒドラターゼ (NHase) 62
 乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) 25, 141
 乳糖不耐症 98
 尿酸 137
 尿酸オキシダーゼ 29

【ぬ】

ヌクレアーゼ 53
 ヌクレオシダーゼ 59
 ヌクレオチジルトランスフェラーゼ 38

【の】

糊抜き 10, 117

【は】

バイオエタノール 169
 バイオ精練 117
 バイオセンサー 146
 バイオ燃料 169
 バイオポリッシング 117
 バイオマス 167
 バイオリクター 106, 125
 バイオレメディエーション 167, 172
 ハイマルトースシロップ 78
 パイロジェン 151

白色腐朽菌 30, 171
 発酵法 102
 発熱物質 11
 パパイン 49
 パルプ漂白 119
 パンクレアチン 151
 パントテン酸 70

【ひ】

ヒオチン 72
 ビタミン B₁ 71
 ビタミン B₂ 69
 ビタミン B₆ 70
 ヒダントイナーゼ 58, 104, 124

ピッチコントロール 120
 非天然型アミノ酸 58
 ピリドキサミン 5'-リン酸 (PMP) 70
 ピリドキサル 5'-リン酸 (PLP) 69
 ピリドキサルリン酸 (PLP) 35, 127
 ピリミジンヌクレオチド
 ホスホリラーゼ 34
 ビール 94
 ビルダー 105, 111
 ピロキノリンキノン (PQQ) 73

【ふ】

フィターゼ 121
 フィチン酸 121
 フェニルアラニンデヒドログナーゼ 27
 ブドウ糖 78
 フマラーゼ 61
 プラスミノーゲン活性化因子 156
 フラビン 28
 フラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) 29, 69

フラビヌクレオチド 69
 フラビンモノヌクレオチド (FMN) 29, 69
 ブラナーゼ 40
 プロエンザイム 47
 プロテアーゼ 47, 87, 112, 121, 165
 プロテイナーゼ K 166
 分子工学 6, 20
 分子内イソメラーゼ 65
 分子ふるい 14

【へ】

ヘキソキナーゼ (Hxk) 37
 ペクチナーゼ 41, 91, 96
 ペクチン質 41
 ペクチンメチルエステラーゼ 59
 ペクチンリアーゼ 62
 ペニシリンアミダーゼ 57
 ヘビ毒エキソヌクレアーゼ 55
 ペプシン 48
 ペプチドグリカン 42
 ペプチドシンターゼ 66
 ヘミセルラーゼ 41
 ヘムタンパク質 29
 ペルオキシダーゼ (POD) 30

【ほ】

包括法 17
 放射免疫検定 (RIA) 150
 補酵素 68, 130
 補酵素再生系 25, 26, 131
 ホスファターゼ 58
 ホスホトランスフェラーゼ 37
 ホスホリパーゼ 52
 ホスホリラーゼ 33

ホーミングエンド	
ヌクレアーゼ	163
ポリヌクレオチドキナーゼ	
(PNK)	37
ホロ酵素	68
【ま】	
マルトース	80
マレイン酸シス-トランス	
イソメラーゼ	64
マンガンペルオキシダーゼ	
(MnP)	30
マンナーゼ	115
【み】	
水飴	76
味噌	87
【む】	
ムコールペプシン	49
【め】	
メチラーゼ	161
メチルトランスフェラーゼ	
	31,32
メディエーター	
	115,117,147
【ゆ】	
有機酸	110
誘導酵素	8
遊離脂肪酸	137
ユビキノン	73

【A】	
ATP 再生系	109
【C】	
CGTase	80,81

【よ】

溶菌酵素	42
【ら】	
ラクターゼ	46,98
ラセマーゼ	63
ラセミ化反応	61
ラッカーゼ (Lac)	
	31,117,159

【り】

リアーゼ	74
リガーゼ	66,68
リグニン	170
リグニンペルオキシダーゼ	
(LiP)	30
リゾチーム	42
<u>リノレイン酸イソメラーゼ</u>	
	65
リパーゼ	
	51,99,100,113,144
リポオキシゲナーゼ	31
リポ酸	71
リポフラビン	69
リポプロテインリパーゼ	52
理論的分子設計	20
リンゴ酸デヒドロゲナーゼ	
(MDH)	25
臨床検査	132,139

【れ】

レンネット	49,84
CoA	70,128

【D】

DNA シャフリング	21
DNA ポリメラーゼ	38,163

【ろ】

ロイシンデヒドロゲナーゼ	27
濾過	19

【わ】

ワイン	96
-----	----

【ギリシャ文字】

α, β -脱離反応	60
α -アミラーゼ	2,39
	76,93,113,117,150
α -グルコシルトランス	
フェラーゼ	65
β -1,3 グルカナーゼ	43
β -アミラーゼ	39
β -ガラクトシダーゼ	98
β -グルコシダーゼ	41
β -置換反応	61
β -チロシナーゼ	60,127
γ -アミノ酪酸トランス	
アミナーゼ	37
<u>γ-グルタミルトランスペプ</u>	
<u>チダーゼ (γ-GTP)</u>	142
λ エキソヌクレアーゼ	56

【数字】

5'-イノシン酸	109
5'-グアニル酸	109

DNA メチルトランス	
フェラーゼ (MTase)	32
D-アミノ酸	123
D-アミノ酸オキシダーゼ	28
D-パントテン酸	128
D-ヒダントイナーゼ	124

【E】	
EC 番号	23
ELISA	150
【G】	
GRAS	5
【L】	
L-アスパラギン酸 β -デカル	
ボキシラーゼ	106

L-アミノ酸オキシダーゼ	28
L-ドーパ	127
L-リシンラクタマーゼ	58
【N】	
N-アシルグルコサミン 2-	
エビメラーゼ	64
【P】	
PCR	163
PQQ	25

【R】	
RNA ポリメラーゼ	38
【S】	
S1 ヌクレアーゼ	55
S-アデノシル-L-メチオニン	<u>31,161</u>
【T】	
TAG	99