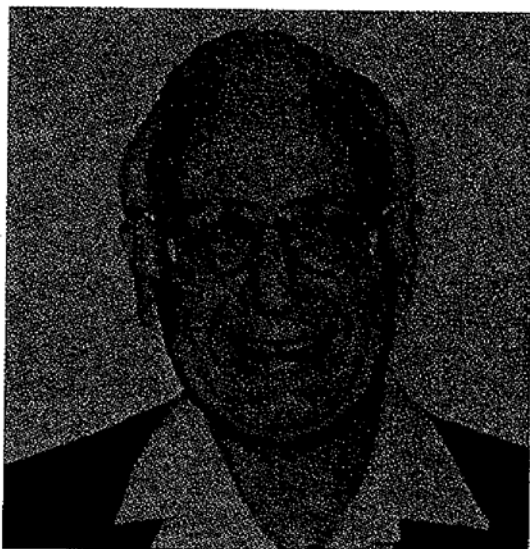


E.カチャルスキー・

カツィール博士

Ephraim Katchalski-Katzir



テルアビブ大学教授，ワイズマン科学研究所教授。著名な物理化学者で，特にバイオテクノロジーの基盤技術の一つである固定化酵素や微生物細胞を用いる。バイオリクターやバイオアナライザーの発見と開発を行なった歴史的先駆者であり，いまなお世界的指導者として活躍。1916年生まれ。

主要著書および論文

Bar-Eli, A. and E. Katchalski. A water-insoluble trypsin derivative and its use as a trypsin column. *Nature* 188, 856(1960).

Goldman, R., O. Kedem and E. Katchalski. Papain-collodion membranes. II. Analysis of the kinetic behavior of enzymes immobilized in artificial membranes. *Biochemistry* 7, 4518 (1968).

Katchalski, E. Preparation and properties of enzymes immobilized in artificial membranes. In: *Nobel Symposium II*, Stockholm, 1968, p.283.

Katchalski, E. Achievements and predicted developments in enzyme engineering. In: *Enzyme Engineering*, Vol. 5, Ed. H.H. Weetall and G.P. Royer, New York, Pleum press, p. 3 (1980).

25年ほど前、多くの細胞酵素は液体の中で働くのではなく、細胞膜あるいは細胞小器官の中に埋め込まれているということが私にはわかりました。こうした形態でこれらの細胞酵素は不均一系触媒として活動します。したがって、その活動の姿は、キャリアー(担体)に人工的に付着させるか、自然もしくは人造細胞膜に埋め込んで特性を調べれば解明できます。そこで私は、初めて人工的に固定化した酵素をこしらえることにしました。これには異なった種類のタンパク質分解酵素(プロテアーゼ)を各種の高分子キャリアーに共有結合させる方法をとりました。驚いたことに、こしらえた酵素ポリマー複合体の中には、非常に安定性の高いものが見つかりました。そこで、固定化酵素はいずれ、理論的な観点からも実際の観点からも、不均一系酵素を代表するものになるだろうということ、またその特性を研究することは価値のあることだろうということがはっきりしたのです。

タンパク質分解酵素の共有結合による固定化、および酵素を膜に埋め込む技術に関する、私たちワイズマン科学研究所グループの研究は、化学業界の関心を引き起こしました。実際のところ、固定化という考え方が最初に商業的な利用に供されたのは日本でした。それは1969年、千畑一郎氏とその仲間が、*Aspergillus oryzae* アミノアシラーゼを固定化することに成功し、その結果得られた不均一系生物酵素を、アシル-DL-アミノ酸からL-アミノ酸を作る連続生産工程に利用したのです。当時、あと2つの固定化酵素システムが、パイロットプラントのスケール段階に到達していました。西ドイツと英国では、現在ペニシ

リンGあるいはVから6-アミノペニシラン酸を商業生産するために使われている固定化ペニシリンアシラーゼが、また米国では、やはり現在グルコース(ブドウ糖)をフルクトース(果糖)に転換するために世界中で使われている固定化グルコースイソメラーゼがパイロットプラント段階にあったのです。

生化学者は、加水分解酵素、イソメラーゼ、トランスフェラーゼ、リガーゼ、酸化還元酵素などの酵素についてはよく知っています。これらの酵素は、広範な種類の化学反応を触媒します。したがって異なった種類の酵素ポリマー複合体が入手可能になれば、基礎的あるいは応用上の問題に取り組んでいる有機化学者に、これら特定の不均一系触媒に対する関心をさらに深めさせることになるでしょう。

**固定化技術** 酵素を固定化するには、ゲルや逆ミセルでトラップする方法、マイクロカプセル化する方法、物理的もしくはイオンで吸着させる方法、無機あるいは有機物のキャリアーに非特異的に共有結合させる方法、酵素活性に影響を与えないモノクローナル抗体を通じてそのようなキャリアーに特異的結合させる方法などがあります。細胞全体を固定化することも、単体のあるいはカスケード状の酵素固定化技術として有望かもしれません。

**酵素反応器** 比較的安定した固定化酵素誘導体が酵素ビーズ、酵素カプセル、酵素カラム、酵素膜の形で入手可能になった結果、様々な種類の酵素反応器が建設されることになりました。これらの中で、産業界、研究所を問わず最も人気のあるのは、バッチ式かしくはタンク反応器、連続式充填層型反応器、連続式流動層型反応器の3つです。

**動的なふるまい** 固定化酵素の動力学を決定するには、結合した酵素の活動に影響を与える要素についての知識が必要です。使用された固定化技術によって、構造的変化が起こるかもしれません。マトリックスによって起こされた立体構造の変化が、高分子量の基質との相互作用を妨げるかもしれません。分配効果が、固定化酵素の中で、基質あるいは製品濃度（もしくはその両方）を変えるかもしれません。また、外的、内的な拡散の限界が、結合した酵素の動的な性質を変えることもあり得るでしょう。表面に結合したり、多孔性の球に埋め込まれたり、膜にとり込まれたりしている酵素の動的な性質と反応様式については、私たちのグループや同じ分野で研究を進めている他の科学者によって、理論的解析がかなり進められています。

**工業化** これまでのところ、固定化した加水分解酵素とイソメラーゼ（異性化酵素）が産業界で大規模に使われています。大腸菌からとって、吸着あるいは有機物・無機物のキャリアーとの共有結合によって固定化されたペニシリンアシラーゼ（ペニシリンアミダーゼ）は、6-アミノペニシラン酸（6 APA）——ペニシリンGから作られる半合成ペニシリンの合成で重要な意味をもつ中間物——の生産のために工業的に利用されています。西ドイツのバイエル、英国のビーチャム両社の固定化ペニシリンアミダーゼのあるものは、私自身の研究所によって開発された工程に基づいて生産されています。

ペニシリンにみられる加水分解酵素反応と同様の現象は、セファロスポリンでも起こります。ここで得られる中間物——7-アミノセ

ファロスポラン酸（7 ACA）と7-アミノデアセトキシセファロスポラン（7 ADCA）——は、半合成セファロスポリンの酵素合成に使われます。

日本の田辺製薬の千畑氏と彼の協力者は、固定化アミノアシラーゼを使いました。これは、酵素を静電的にDEAEセファデックスに結合して得られるもので、目的は、人工合成したラセミ化アセチル-DL-アミノ酸から、光学的に活性な性質を備えたアミノ酸を得るために、特定の立体構造触媒として使うことです。L-メチオニン、L-フェニルアラニン、L-トリプトファン、L-バリンを24時間内に数百キログラム作るために、1000リットルのアミノアシラーゼのカラムが使われています。もう1つ日本人が開発した効率的な工業化プロセスは、アスパラギン酸合成活性の高い固定化大腸菌をいっぱいにしたカラムを使って、フマル化アンモニウムからL-アスパラギン酸を生産するものです。この新技術は、固定化した細胞を利用するというもので、従来の発酵あるいは酵素技術より優れていることがわかりました。

米国、日本、ヨーロッパでは、固定化したグルコースイソメラーゼを用いて、テンパンから得たグルコース（ブドウ糖）を部分的に異性化することによって、高フルクトース（果糖）シロップを大規模に工業生産しています。この酵素は、各種の枯草菌と放線菌から生産され、吸着あるいは適当なキャリアーとの共有結合、あるいは酵素を含む微生物の固定化によって、固定化できます。米国、ヨーロッパ、日本では、毎年数百万キログラムの高フルクトース・シロップが生産されています。

**補助因子の回収と再利用** 上にあげた工業生産工程で使われている固定化酵素は、どれも補助因子を必要としていません。しかし、IUBに登録されている2000の酵素のうち、3分の1以上は触媒作用を起こすためには5つのアデニン補酵素 (NAD, NADP, ATP, FAD, CoA) のどれかを必要とします。これらのコストは高いので、酵素的な方法、化学的方法、あるいは電気化学的方法によってこれらを再生利用する効率的な技術の開発努力が払われています。

**生体物質の合成への応用** 予備的な規模ですが、アデノシンからのATPの酵素的合成が、米国のホワイトサイズたちによって開発されました。これは、アデノシンキナーゼ、アデニラートキナーゼ、アセタートキナーゼという3種類の固定化酵素を使うものです。比較的大量のATPが入手可能なこと、3種類の固定化キナーゼに関して得られた経験もに、これらの研究者たちは、補助因子の再生により、ヘキソキナーゼと固定化クレアチンキナーゼをそれぞれの触媒として用いて、グルコース-6-リン酸とクレアチンリン酸の大規模な酵素的合成工程を作ることができたのです。

カルボキシペプチダーゼYが触媒となるより有利なペプチド合成が、最近、デンマークのヨハンセンたちによって提案されました。適当な求核物質が存在するところでは、溶媒内もしくは固定化形態のカルボキシペプチダーゼYは、各種のペプチド移転反応で触媒として働きます。この結果、化学基を保護することなしに、ペプチドやアミノ酸からオリゴペプチドを合成すること、そして各分子の末端のC-アミノ酸を交換することが可能にな

りました。後の方の反応は、ブタのインシュリンをヒトのインシュリンへと酵素的に転換することを工業規模で可能にしました。

合成生化学者にとって興味深いことは、最近、クリバノフと彼の協力者 (マサチューセッツ工科大学) によって行なわれた、通常の酵素の異常な触媒としての性質に関する発見です。この結果、溶媒中もしくは固定化形態の酵素は、それらの“正常な”生化学反応に加え、ある生化学的に“異常な”プロセスで触媒として働くことがわかりました。これらをまとめると、第1に、グルコースオキシダーゼが各種芳香族化合物の還元反応の触媒となりました。第2に、ガラクトースオキシダーゼが炭素数3のアルコールを立体特異的に酸化させました。第3に、ペルオキシダーゼが芳香族化合物の選択的な水酸化を増強しました。

もう1つここで指摘する価値のある話題は、カナダのウォルフらたちによる、放線菌の一種 *Streptomyces clavuligerus* から得られた4つの固定化酵素を用いた  $\delta$ -(L- $\alpha$ -アミノアジピン)-L-システイン-D-バリンペプチドのペニシリンあるいはセファロスポリンへの試験管内での転換に関するすぐれた研究です。

**化学分析、臨床検査への応用** 酵素の固定化技術は、酵素カラムや酵素チューブの技術を発展させました。これらにより、通常の分析手法で酵素の基質の量を決定することができるようになりました。これらは、検査物に対する特異的な触媒の混合体として繰り返し使えるものです。すでに病院や研究室で、連続自動分析機器として使われています。これに関して特に注目されるのは、スウェーデンの

モスバックたちによる酵素を使ったサーミスタの設計でしょう。これは固定化酵素によって基質が変化した結果もたらされる熱を測定するものです。

酵素固定化膜は、酵素電極を開発する際に特に有効でした。この酵素電極は、グルコース、尿素、アミノ酸、アルコール、乳酸などの基質を、ポテンシオメーター（電位差計）、あるいは電流滴定計の手法によって測定するバイオセンサーに使われています。

**固定化細胞** “固定化細胞”という言葉は、単一の活性酵素種を持つ死んだ細胞から、3次元ポリマーの基質の上であるいは内部で増殖している細胞まで、すべてを指します。固定化細胞が特に有望なのは、補酵素再生を行なう能力、適切な酵素によって特定の基質に連続した変化をもたらす能力があるからです。

今日、細菌、イースト、真菌類のほか、植物や動物の細胞の固定化技術が開発されています。このように固定化された原核細胞や真核細胞が入手可能になった結果、ウイルス、ワクチン、インターフェロンといった生物学的活性物質の大量生産が促進されたのです。

**結論** 固定化酵素と固定化細胞の利用は、研究室、病院、産業界などで着実に増えており、有機合成、化学分析、生物電気化学、生物エネルギーなどの分野でも、今後ますます利用されるようになることは確実でしょう。遺伝子工学や生物工学の研究者によって、必要な酵素の大量生産のための新技術が開発され、触媒としての特徴がまだ知られていない新種の酵素の生合成さえ可能になってくると、酵素の利用をいま述べたようなすべての分野に拡大することができるようになるでしょう。

しかし、将来の応用研究の基盤となる理論的基礎を強化するためには、基礎研究が必要です。酵素の安定性を決定する要因が解明されなくてはなりませんし、酵素を安定化するための一般的な手順も開発しなくてはなりません。共同因子の回収技術を開発し、酵素触媒による酸化還元におけるタンパク質からタンパク質への、また、タンパク質から有機化合物ないしは無機化合物への電子運搬に関するメカニズムを解明することも必要です。これらの分野における進歩は、固定化酵素と固定化細胞の継続的活用をより確固たるものにするだけでなく、新しいバイオセンサーの開発を促進し、高度のバイオチップを生産するための基礎を築いていくはずで、生体膜に取り込まれた酵素の構造と活動形態、およびこれら酵素の周辺化合物との相互作用を解明するための努力がさらになされなければなりません。なぜなら、試験管内の固定化酵素システムの活動を理解することは、生体内におけるそのようなシステムの設計を大いに促進するだろうからです。

私が最初に酵素とポリマーの共役に関する研究を始めた時、動機は、純粋に理論的なものでした。しかしながら、こうした研究には、実際的な重要性も相当にあることがわかったことは、素晴らしいことです。世界中の生化学者、細菌学者、遺伝学者、分子生物学者、高分子化学者、生物工学者が協力し合えば、今後とも進歩が保証されるでしょう。すべての人々のため、こうした学際的な協力が行なわれるのを目のあたりにすることは、私にとって常に大きな満足となるに違いありません。