

【緒言】 寒天の主成分であるアガロースをアガラーゼによって加水分解すると、保湿効果や抗癌作用など、様々な有用性を持つ寒天オリゴ糖が得られる。これまでの研究により、4糖、6糖を2糖に分解する新規β-アガラーゼの存在が予想された。この酵素の遺伝子が明らかになれば、寒天を2糖にまで分解できる。そこで本研究室では、新規β-アガラーゼの精製を試みた。

【実験方法】 寒天分解菌 *Cellvibrio* sp. を寒天培地に植菌し、25℃で振とう培養した。その後、超音波処理を行い、上清液を粗酵素液として回収した。限外ろ過膜を用いて濃縮し、陰イオン交換クロマトグラフィーとゲル濾過クロマトグラフィーにより精製した。得られた活性画分を SDS-PAGE にかけて、精製度を評価した。アガラーゼ組換え大腸菌を培養して得たアガラーゼを用いて寒天を分解して、4糖・6糖混合物を調製し、基質として分解実験を行い、アガラーゼ活性を HPLC により評価した。また、種々の温度で加温した後、残存活性を測定し、熱安定性を評価した。さらに、サブユニットと Native 酵素の分子量を SDS-PAGE およびゲルろ過クロマトグラフィーにおける標準タンパクの分子量と移動度または溶出体積の関係から推定した。

【結果】 陰イオン交換クロマトグラフィーを行った結果、精製度は粗酵素の 76.1 倍になった。さらにゲル濾過クロマトグラフィーを行い、得られた活性画分を SDS-PAGE にかけたところ、2本のバンドが見られ、新規β-アガラーゼを部分的に精製できたと思われる。また、40℃、30分加温後の残存活性は約50%となり、熱安定性は他のβ-アガラーゼと同程度と思われる。サブユニットの分子量は約41kDa、Native 酵素の分子量は約97kDaと推定された。このことから、新規β-アガラーゼは二量体であると思われる。