

## 卒業論文要旨

### 組換え寒天分解酵素 AgaB と AgaC の諸特性の比較

1150262 細川 愛貴

#### Comparison of enzyme properties of recombinant agarases AgaB and AgaC

Aiki Hosokawa

【緒言】 近年、寒天オリゴ糖には様々な生理活性が見出され、注目を集めている。本研究室では、寒天オリゴ糖生産のため、アガラーゼ遺伝子 agaB と agaC をそれぞれ大腸菌にクローニングすることに成功し、それらの遺伝子から得られたアガラーゼが同じ寒天オリゴ糖を生産することが分かった。そこで、本研究では、AgaB と AgaC の耐熱性等の諸特性を調べた。

【実験方法】 agaB と agaC を組換えた大腸菌を用いて、AgaB, AgaC を含む粗酵素液を調製した。1g/ℓの agarose Type II を溶かした緩衝液(基質液)に粗酵素を加え、種々の条件で 30 分間分解反応を行い、フェリシアナイド法を用いて、還元糖の測定を行い、酵素活性を算出した。耐熱性を調べる場合、粗酵素を 30 分間所定温度(25℃～60℃)で加温し、その後、酵素活性を測定した。活性に対する温度の影響を調べる場合、分解反応を所定温度(25℃～60℃)で行い、酵素活性を測定した。活性に対する pH の影響を調べる場合、基質液の pH を変え、酵素活性を算出した。市販の耐熱性酵素(Thermostable  $\beta$ -agarase)の耐熱性と比較した。

【結果・考察】 耐熱性を調べた結果、AgaB では 40℃から残存活性が下がり始め、55℃では残存活性は 30℃における活性の 25%程度まで低下した。これに対して、AgaC では 55℃を超えても 70%程度残存活性が保持されていた。また、Thermostable  $\beta$ -agarase では 25℃～55℃で、ほぼ 100%活性が保持されたが、60℃では残存活性が 45℃における活性の 65%程度まで低下した。活性に対する温度の影響を調べた結果、AgaB では活性の最適温度が 45℃であり、AgaC では 35℃であった。さらに、活性に対する pH の影響を調べた結果、AgaB, AgaC 共に pH7 付近で最も高い活性を示し、pH4 付近でも 70%程度活性は保持されていた。また、pH が高くなるにつれて AgaB では活性が急激に低下したのに対して AgaC では pH9.5 付近でも活性が 80%程度保持されていた。これらの結果から、AgaB と AgaC の特性に大きな違いがあることが分かった。AgaC は Thermostable  $\beta$ -agarase と同程度の耐熱性があると思われる。