

【緒言】 キシラナーゼは多糖であるキシランを分解して、キシロオリゴ糖を生成する酵素である。キシロオリゴ糖には、ビフィズス菌の増殖促進効果やカルシウムの消化吸収を高める効果など、多くの有用な効果がある。そこで、本研究では 0A-2007 から大腸菌にクローニングされた組換えキシラナーゼの精製を試みた。

【実験方法】 キシラナーゼ遺伝子をもつ組換え大腸菌を LB 培地で培養し、粗酵素液を調製した。陰イオン交換クロマトグラフィーとゲルろ過クロマトグラフィーにより、粗酵素液を精製した。酵素によるキシラン分解後の還元糖をフェリシアナイド法により測定し、BCA assay Kit により測定したタンパク質濃度で割り、比活性(タンパク質量当たりの活性)を求めた。また、SDS-PAGE を用いて酵素タンパクの分子量を測定した。その後、精製した粗酵素の諸特性を調べた。

【結果・考察】 陰イオン交換クロマトグラフィー後の比活性は粗酵素液の約 1.4 倍、ゲルろ過クロマトグラフィーは約 2.7 倍となった。また、SDS-PAGE 分析の結果より、陰イオン交換クロマトグラフィー後には 37kDa 付近に濃いバンドが見られた。これは組換え大腸菌の塩基配列から求めた推定分子量と一致しており、酵素の部分精製には成功したと考えられる。ゲルろ過クロマトでの溶出液量より、精製した酵素は 2つのサブユニットから構成されていると考えられる。酵素活性の最適温度は 30°C、であることがわかった。