

1995年 第68回日本生化学会大会

Flavobacterium 属細菌が生産する新規 endo-fucoidan-lyase の精製と性質および酵素反応生成物の大量調製

【目的】前報記載の新規 endo-fucoidan-lyase の大量生産、精製、性質検討、および酵素反応生成物の大量調製を目的とした。【方法】ガゴメ昆布由来の fucoidan 0.3%を含む20リットルの培地で *Flavobacterium* 属細菌を培養し、その培養上清を濃縮、塩析後、各種カラムクロマトグラフィーにより精製した。酵素活性は反応の進行と共に増加する235 nmの吸光度の増加量により測定し、1分間に1 μ mol の $\Delta_{4,5}$ GlcAの生成に相当する紫外部吸収増加を起こす酵素量を1Uと定義した。また、本酵素の反応至適条件を検討し、10gの fucoidan を酵素分解して反応生成物の単離も試みた。

【結果】1回の培養で約120Uの酵素を生産できた。精製収率は約20%で精製酵素はPAGE的にほぼ均一となり、分子量は約7万、至適pHはpH8付近、至適温度は30-40℃であった。10gの fucoidan を完全分解するのに必要な酵素量は約1Uであった。この分解反応液中の低分子画分を陰イオン交換カラムにより分離したところ非吸着画分はなく、紫外部吸収の強い酸性オリゴ糖が数種類得られ、そのうち2種類のオリゴ糖が約90%を占めた。

【結論】上記結果より fucoidan の中にマンノースとウロン酸とフコースからなる比較的均一な繰り返し構造があることが推定された。