

琉球大学学術リポジトリ

Sporotrichum

sp.HG-1の生産する耐熱性キシラナーゼの各種キシロオリゴ糖に対する作用様式

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 長間, 邦和, 石原, 昌信, 当山, 清善 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002017029

(4) *Sporotrichum sp.HG-1*の生産する耐熱性キシラナーゼの 各種キシロオリゴ糖に対する作用様式

琉球大学農学部 長間邦和, 石原昌信, 当山清善

【目的】植物細胞壁多糖は主としてセルロース、ヘミセルロースおよびペクチンから構成されており、同多糖の酵素分解はセルラーゼ、ヘミセルラーゼ及びペクチナーゼの協同作用によって進行する。近年、植物細胞壁中には同多糖とエステル結合したフェノール化合物の存在が明らかとなり、本エステル結合の存在と酵素分解性との間には負の相関が認められている。フェルラ酸やp-クマル酸などのフェノール化合物はキシログルカン側鎖のアラビノースやガラクトース及びペクチンとエステル結合を介して存在している例が多いが、その存在様式は起源によって異なっている。従って、植物細胞壁中のキシログルカンの酵素分解性を高める為には高活性のキシラナーゼとともにエステル結合の切断に関与するフェルラ酸エステラーゼが必須であると考えられる。

本研究室では、各種植物細胞壁の酵素分解機構を明らかにするとともに未利用植物資源の有効利用を図ることを最終目的として、コンポスト中からキシログルカン分解性の高い好熱性糸状菌*Sporotrichum sp.HG-1*を分離し、同菌株の生産する植物組織分解酵素に関する研究を実施中である。本研究では、*Sporotrichum sp.HG-1*の小麦フスマ培養菌体抽出液から耐熱性キシラナーゼの精製を行い、酵素の各種キシロオリゴ糖に対する作用様式などについて調べたので報告する。

【方法】菌の培養は、小麦フスマ固体培地を用いて、50℃にて4日間静置して行った。酵素の抽出は、培養菌体へ2倍量の蒸留水を加え、室温で時々攪拌して行った。酵素反応は基質とともに酵素を加え、pH4.5、37℃において30分間保持して行い、酵素反応で生成された還元糖量をSomogyi-Nelson法を用いて測定した。

酵素1単位は酵素反応条件下で、1分間にキシロース1 μ molを生成する酵素量と定義した。酵素の精製は、粗酵素液を硫酸分画した後、DEAE-Sephadex A-50, CM-Sephadex C-50, Toyopearl HW150及びSephacryl S-200カラムクロマトグラフィーにより行った。酵素反応生成物の分析は薄層クロマトグラフィー及び液体クロマトグラフィーにより行った。

【結果】小麦フスマ固体培地より調製された粗酵素液を用いて、硫酸分画に次いで各種カ

ラムクロマトグラフィーを行うことにより酵素は電気泳動的に均一に精製された。酵素の分子量は、SDS-PAGE法により約33,000と算出された。本酵素によるキシランの最終分解産物は、おもにキシロース、キシロビオース、キシロトリオースであった。本酵素活性は、PMSFで阻害されたことから酵素活性の発現にセリン残基が関与しているものと考えられた。また、本酵素はHgやPCMB等のSH試薬によっても阻害が認められた。キシロトリオースを基質とする反応においては、Mn添加で酵素活性の増大が認められたが、酵素活性の増大の程度はMn濃度に依存していることがわかった。一方、糖鎖がキシロテトラオース以上のキシロオリゴ糖及びキシランを基質とする反応においてはMnの添加効果は認められなかった。