

〔目的〕 果実や野菜等の細胞間充填物質であるペクチン質の分解酵素の1つであるペクチンエステラーゼ (PE) の精製にアフィニティクロマトグラフィーを試みるに当たり、これに用いる充填剤の合成に際して、A, B 2種の担体にそれぞれ数種のリガンドを結合させて得た充填剤についてPE精製の効果を比較した。

〔方法〕 供試材料として富有柿を用いた。PE活性は、基質1%ペクチン溶液 (0.1M - NaCl溶液含む) より遊離する酸の生成量を0.1N NaOH溶液で中和する方法を用いた。

カラム充填剤の合成法Aは、担体にアルキルアミンビーズを用い、カルボジイミドで活性化し、リガンドとしてポリガラクトuron酸、ペクチン、ペクチン酸の3種を用い、水素化ホウ素ナトリウムを加え、よく振って反応させる方法であり、Bは担体にアミノ基を有したAH-セファロース4Bを用い、リガンドとしてペクチン、ペクチン酸の2種を用いてカルボジイミドを加えて反応させる方法で調製した。次に充填剤をカラムに詰め (10φ×20mm)、緩衝化後、PE溶液を0.2 ml/分の流速で吸着させ、種々の条件で溶出させた。蛋白質濃度及びPE活性を測定し、比活性、収量等を求め、比較検討した。

〔結果〕 種々の条件で充填剤の合成を行い、PEを精製した結果、いずれもアフィニティクロマトグラフィーの目的は達しられたが、AH-セファロース4Bにリガンドとしてペクチン酸を用いて充填剤の合成を行い、PEをpH 6.0の0.01Mリン酸緩衝液で充填剤に吸着させ、0.5M-NaClを含むpH 6.0の0.01Mリン酸緩衝液で溶出させることにより、精製度が約20倍、回収率が76.0%と良いアフィニティクロマトグラフィーを行うことが出来た。