

〔目的〕 キウイフルーツにはすでに知られている“アクチニジン”とよばれるプロテアーゼの他に、コラゲナーゼも存在することを前回の本大会において演者らは報告した。今回は、そのコラゲナーゼの幅広い利用を可能にするために、さらに精製を加え、酵素の特性について検討した。

〔方法〕 キウイフルーツはホモジネート後、遠心分離してでんぷんを除去した。次に硫酸分画を行い20~40%の画分を得た。さらにイオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーにより、コラゲナーゼの精製を行い活性画分を回収した。コラゲナーゼ活性は、牛アキレス腱I型コラーゲンを基質にしてニンヒドリン試薬を加えて発色させ、570nmにおける吸光度を測定する方法により検討した。

〔結果〕 コラゲナーゼ活性の存在する20~40%硫酸分画について、10mMトリス塩酸緩衝液 (pH7.4)に100mM から300mM NaCl の直線的濃度勾配をつけてイオン交換クロマトグラフィーを行ったところ、たんぱく質のピークの一つと重なるNaCl濃度が175mM 付近にコラゲナーゼ活性の大きなピークが現れた。このピークを濃縮し、ゲルろ過クロマトグラフィーを行ったところ、たんぱく質のピークとほぼ重なる約52kDa の位置に活性のピークが現れた。この部分についてSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行ったところ、約60kDa の位置にバンドが検出された。現在、このバンドに活性が存在するか検討中である。