

ホタテガイ中腸腺シスチンスルフィン酸脱炭酸酵素の精製とその諸性質

○村瀬佳代・海老沢優子・宮地竜郎・笠井孝正・境博成（東京農大生物産業）

キーワード：タウリン・ホタテガイ中腸腺・シスチンスルフィン酸脱炭酸酵素

【目的】 シスチンスルフィン酸脱炭酸酵素（EC4.1.1.29）は動物組織においてシスチン等の含硫アミノ酸をタウリンに変換する反応のなかで、シスチンスルフィン酸経路およびシスチン酸経路に関与する酵素である。この酵素はウシ、ブタ、ラットなどの哺乳動物でその諸性質が明らかになっているが、魚類や貝類などの海産動物においては殆ど知見がない。演者らはホタテガイやカキなどの二枚貝におけるタウリン生合成が主にシスチン酸経路で行われていることを報告した。本研究ではホタテガイ中腸腺の本酵素の精製とその諸性質について検討した。

【方法】 新鮮なホタテガイ中腸腺に3倍量の10mMリン酸緩衝液（pH7.2）を加え、ワーリングブレンダーでホモジナイズしたのち、遠心分離（12,000rpm, 30分, 4℃）を行って上清の粗酵素液を得た。この液を硫酸塩析、陰イオン交換クロマトグラフィー（DEAE Cellulose 52, 径2.5×35cm）、ゲル濾過クロマトグラフィー（Sephadex G150, 径1.1×90cm）により精製し活性画分を取得した。SDS-PAGE およびゲル濾過クロマトグラフィーにより分子量を推定した。タンパク質の定量はLowry法、酵素活性測定の基質はシスチン酸を用い、精製したタウリンはHPLCで定量した。

【結果】 酵素活性は50-60%飽和硫酸塩析画分に強くみられ、NaClの濃度勾配による陰イオン交換クロマトグラフィーでは0.05-0.1M-NaCl溶出画分付近に活性が認められた。更にこの活性画分をゲル濾過クロマトグラフィーにより再分画し、単一のタンパク質と思われる活性ピークを取得した。ゲル濾過法による分子量は約85kDa, SDS-PAGEでは約40kDaであり、本酵素は約40kDaのタンパク質の2量体であることが示唆された。また、本酵素はシスチンスルフィン酸とシスチン酸の両方を基質とする酵素であるが後者に対する親和性が高く、Lineweaver-BurkのプロットからKmは0.33mMであった。至適pHおよび温度はそれぞれ7.0および42℃であった。

