

不溶化酵素

309

Carbamyl phosphate synthetase の不溶化

— 水中乾燥法マイクロカプセル化条件の検討 —

(阪大薬) ○高松典正, 宮本和久, 岡崎光雄, 三浦喜温

1. 目的 複数種の酵素を同時に不溶化することによって、生体内の機能の一部を代用させることができると考えられる。我々は、肝臓特有の carbamyl phosphate synthetase (CPS), ornithine transcarbamylase (OTC) による citrulline 合成系に注目し、両酵素の不溶化を試みた。不溶化には Chang²⁾ のマイクロカプセルに着目し、特に温和な条件でカプセル化できる利点をもった水中乾燥法を用いた。カプセル化収率(カプセル化酵素量/使用酵素量)を向上すべく、種々調製条件を検討し、得られた知見をもとに CPS、OTC のカプセル化ならびに連続反応を行った。

2. 方法 CPS、OTC は bull frog の肝臓から両酵素を同時に含む調製条件で得た。マイクロカプセル化は、北島³⁾の方法に準じて行った。すなわち、カプセル膜材となるポリマーを有機溶媒に溶かし、これに酵素液(W_1)を乳化し、 W_1/O 型一次エマルジョンを得る。さらにこれを界面活性剤の水溶液(W_2)中に二次分散させ(W_1/O)/ W_2 型複合エマルジョンとする。この状態で通気、攪拌、加温を行い、有機溶媒を除去するとポリマー被膜が形成され、酵素を含むマイクロカプセルが得られる。カプセル化収率測定の指標には、glucose oxidase または Blue dextran を用いた。マイクロカプセル化 CPS、OTC の安定性を確認するために、これをカラムに充填し、連続反応を行った。生成した citrulline 量を、Archibard⁴⁾の変法により経時的に定量した。

3. 結果 本法によるマイクロカプセル化酵素の調製には、まず W_1/O 一次エマルジョンの安定性が前提であり、次に酵素液と二次分散媒中の溶質濃度のバランスが重要であった。エチルセルロースを膜材として用いた場合、 W_1/O エマルジョンは十分安定であった。また二次分散媒として界面活性剤の他、糖、塩類等を添加することによって、高収率でカプセル化酵素を得ることができた。これはカプセル形成時に働く浸透圧が関与しているためと思われる。膜材の溶媒選定も重要な因子であり、酢酸エチル、エーテル等は CPS の活性を著しく低下させたが、ベンゼンは酵素を失活させることのない優れた溶媒であった。その他、酵素の失活を避けるため、カプセル形成過程の温度は 30°C 以下で行い、表面通気によるベンゼンの早期除去も、活性をも含めた収率を高める上で有効であった。得られたマイクロカプセル化 CPS、OTC のカラム連続反応を行った結果、両酵素に触媒される二段階の反応により citrulline の生成が認められ、20 時間後も初期の 70 % の活性が保持されていた。

- 1) T.M.S. Chang: *Science*, 146, 524 (1964)
- 2) T.M.S. Chang: *Science Tools - The LKB Instrument J.*, 16, 33 (1969)
- 3) 北島ら: *工学化学雑誌*, 72, 493 (1969)
- 4) R.M. Archibard: *J. Biol. Chem.*, 156, 121 (1944)