

白米中の α -グルコシダーゼの活性化機構

-還元剤およびpHの影響-

竹内若子 (名古屋女大)

<目的> 昨年度の本会において、白米中のデンプン分解酵素のうち枝切り酵素(DBE)と α -グルコシダーゼ(α -GSD)とは類似した活性変動がみられ、*in vitro*での還元剤による活性化には不溶性酵素の可溶化が深く関与していることを報告した。本研究では、 α -GSDの活性化機構の解明を目的として特異抗体を用いたウェスタン解析とともに、本酵素を白米粉から単離・精製し、その性質検討も行った。

<方法> 1) 白米および発芽種子中の粗酵素における還元剤 (SH還元剤, アスコルビン酸ナトリウム還元型チオレドキシン) 処理及び抽出bufferのpHのちがい (pH 5.0とpH 7.5) による活性化について特異抗体を用いたウェスタンブロット解析を行った。2) イネ品種「蕨の風」の白米粉より50 mM Na-acetate buffer (pH 5.0)で粗酵素を抽出し、陽イオン交換樹脂および等電点カラム等を用いて精製した。 α -GSDの酵素活性は、グルコースオキシダーゼ法によった。また、ゲル上での活性染色法も試みた。

<結果および考察> 1) 低濃度 (SH還元剤の1/100) の還元型チオレドキシン処理による白米中 (*in vitro*)の α -GSD活性の著しい増加とともに、免疫バンド (抗原) の低分子側へのシフトも観察された。2) pH 5.0のacetate bufferで抽出した粗酵素では、pH 7.5のHepes-KOH bufferのそれと比べ、著しい活性の増加がみられ、両者間において抗原量及び抗原の分子量サイズにも違いがみられた。3) 発芽種子中では、還元剤無添加でも可溶性抗原量の増加を認め、発芽に伴う還元力の発現が確認された。4) 精製酵素のSDS-PAGE分子量サイズは約100 kDaにメインバンドを示し、至適pH 4.0, IEF-ウェスタンの結果、pIは9.3~9.4に免疫バンドが検出された。またマルトース、マルトトリオース、イソマルトースを基質に用いた場合の K_m 値はそれぞれ 6.1 mM, 6.7 mM, 22 mMで、マルトースとマルトトリオースに対して同程度の親和性を示すことが明らかとなった。