

目的：ブラックマッペはもやし原料豆として広く食用に供されているが、演者らは既に本種子中に各種プロテアーゼ及びプロテアーゼインヒビターが存在することを明らかにしそれらの精製法や諸性質について報告してきた。今回は豆類の内因性プロテアーゼの調理加工時における作用機作を明らかにする一端として、本種子中に含まれる Benzoyl- α -Arginine p-nitroanilide 水解酵素 (B A P A ase) と Arg 誘導体の親和性について検討したので報告する。

方法：タイ国産ブラックマッペ (Vigna mungo) を試料とし、暗所室温で24時間発芽させ、Tris-HCl緩衝液 (pH 7.2) でホモジナイズした。冷却遠心分離 (10,000 r.p.m., 10 min.) によって得られる上澄液を80%飽和硫酸で塩析し、4℃で一晩透析し粗酵素液とした。酵素活性の測定はBenzoyl- α -Arginine p-nitroanilideを基質とし37℃で30分反応後30%酢酸で停止させ、410nmの吸光度より算出した。タンパク質の定量はLowry法によった。Affinity chromatography用の担体としてAF-トレシルトヨパール(東ソー)を用いた。

結果：Argの各種誘導体のB A P A aseに対する阻害度を測定すると、終濃度1mMにおいて各々 Carbobenzoxy-L-Arginine 20.7%、L-Arginine β -naphtylamide 83.1%、Benzoyl- α -Arginine 29.1%、D-Arginine methyl ester 32.5%であった。また、Lineweaver-Burkのプロットより阻害型式を検討したところ、D-Arginine methyl esterは拮抗阻害、L-Arginine β -naphtylamideは非拮抗阻害であった。これらの結果をふまえてAffinity Chromatographyの可能性についても検討した。