

# オオムギ (*Hordeum vulgare*) $\beta$ -amylase の 澱粉粒吸着能および分解に関する研究

応用分子生物学講座 分子酵素学分野  
原口 慶子

(背景と目的)  $\beta$ -amylase は、可溶性澱粉の  $\alpha$ -1,4 結合に特異的に作用し、非還元末端より  $\beta$ -アノマー型マルトースを遊離する。イネやオオムギなどの発芽種子において、吸水後  $\alpha$ -amylase が分泌される。 $\alpha$ -amylase により澱粉粒が分解された後、遊離された可溶性澱粉を  $\alpha$ -amylase、debranching enzyme、 $\beta$ -amylase および  $\alpha$ -glucosidase が分解し、グルコースを遊離する。植物由来  $\beta$ -amylase は澱粉粒に直接作用することができないと考えられてきた。タンパク質の構造においても微生物由来  $\beta$ -amylase は生澱粉に吸着および分解を行うことが確認されており、澱粉粒吸着ドメイン (SBD) を持つ。植物由来  $\beta$ -amylase には SBD がなく吸着能を持たないと考えられていたが、本研究でオオムギ  $\beta$ -amylase と澱粉を反応させたところ吸着現象がみられた。このことからオオムギ  $\beta$ -amylase が澱粉粒吸着に関わっていることが示唆された。オオムギ  $\beta$ -amylase の酵素標品を用いて澱粉粒への作用の解析を目的とした。

(方法および結果)  $\beta$ -amylase は市販酵素製剤から疎水クロマトグラフィーおよびイオン交換クロマトグラフィーにより精製し、本精製酵素液とオオムギ澱粉およびイネ澱粉を混合し、4°Cにおいて吸着実験を行った。オオムギ  $\beta$ -amylase は澱粉粒に対し30%程度の吸着を示した。反応系の pH および塩濃度を変化させたところ、吸着に影響は見られなかった。硫酸アンモニウム濃度を上げたところ、吸着量の増加が見られた。これらのことから澱粉と酵素が疎水的な結合により吸着したと予想される。更に、吸着と同時に 37°Cにおいて澱粉粒の分解を確認した。植物  $\beta$ -amylase は単独で生澱粉に作用しないが、本研究では非常に低い澱粉分解率が得られた。澱粉粒に対し吸着も分解も行わない糸状菌 *Aspergillus niger* 由来  $\alpha$ -glucosidase をオオムギ  $\beta$ -amylase と共存下で同様に澱粉粒分解反応を行ったところ、分解率が増加した。したがって  $\beta$ -amylase と  $\alpha$ -glucosidase は相乗的に澱粉粒を分解することが可能であると言える。

(考察) オオムギ  $\beta$ -amylase は SBD を保持しないが、吸着能を示す。吸着には疎水的な結合が関与していると予想される。オオムギ  $\alpha$ -amylase は SBD を持たないが触媒部位とは異なる位置に、芳香族アミノ酸が疎水的な結合に寄与している。植物  $\alpha$ -glucosidase もまた SBD を持たないが、澱粉粒吸着において芳香族アミノ酸の関与が推定されている。生澱粉に吸着し分解することが可能である。 $\beta$ -amylase もまたこれらと同様に特定のアミノ酸が吸着に関与している可能性が推測される。また、 $\beta$ -amylase と  $\alpha$ -glucosidase が相乗的に澱粉粒を分解することから、 $\beta$ -amylase の吸着により澱粉粒に構造変化が生じ、澱粉粒を分解しやすくなったと考察する。