

スプラウトを用いた米たんぱく質の分解

半谷 朗*1、日渡美世*1、内藤茂三*1

Decomposition of Rice Seed Proteins with the Proteases Extracted from Rice-Sprouts (Germinated Rice Grains)

Akira HANYA, Miyo HIWATASHI and Shigezo NAITO

Food Research Center, AITEC*1

発芽玄米を発芽条件（光、温度、栄養源、培養日数）を変化させて調製し、発芽玄米が生産するプロテアーゼ、アミラーゼ活性を測定した。その結果、「光照射あり、25℃、栄養源添加なし、培養日数1日」の条件で、たんぱく質分解に適した高プロテアーゼ活性、低アミラーゼ活性の酵素液が得られることが判明した。さらにこの発芽玄米酵素液は米たんぱく質のうち56kDaのたんぱく質を特異的に分解した。

1. はじめに

厚生労働省が1998年に発表した「食物アレルギーに関する調査報告」によると、調査人数中7.3%に食物摂取が原因と考えられるアレルギーが認められており、食物アレルギーへの対策が望まれている。一方、近年さまざまな植物のスプラウト（芽）について抗癌作用や高濃度のGABAを含むなどの機能が注目され、一部で製品化されている。スプラウトの1つである麦芽では種子成分を分解する酵素群が生産されている。

そこで本研究では、スプラウトから抽出した酵素を用いて低アレルギー化剤を開発することを目的とした。アレルギーの分解をするために高プロテアーゼ活性であり、また、反応中の米粒の崩壊を防ぐため低アミラーゼ活性であることを低アレルギー化剤の指標として、発芽玄米の発芽条件、酵素抽出条件と酵素活性の違い及び酵素液による特異的な米たんぱく質の分解について検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

発芽玄米調製用の玄米は平成15年愛知産「あさひの夢」を使用した。栄養成分は表1のとおりである。

2.2 試験方法

2.2.1 発芽玄米の調製

イソプロパノール及び次亜塩素酸ナトリウムを用い

て滅菌処理した玄米を培養容器中の0.7%寒天培地に播種し、LED光源（660nm）（東京理化器械㈱）を組み込んだ恒温器で発芽させた。

2.2.2 酵素活性の測定

プロテアーゼ活性はDuboisらによるパピインの活性測定法に基づき測定した。アミラーゼ活性はα-アミラーゼ分析キット（㈱キッコーマン）を使用して測定した。たんぱく質の定量はプロテインアッセイ染色液（BIO-RAD㈱）を用いて測定した。

表1 玄米試料栄養成分

	試料 100 g 中
水分	14.45 g
たんぱく質	6.30 g
脂質	2.33 g
炭水化物	75.46 g
灰分	1.46 g

2.2.3 酵素抽出条件

発芽玄米からの酵素抽出は水抽出を行い、その残渣に対して1MNaCl溶液で抽出を行い、さらにその残渣に対して20-99%エタノール（EtOH）を用いて抽出を行った。抽出は全て20℃、1時間の条件で行った。

2.2.4 たんぱく質の検出

たんぱく質の検出にはSDS-ポリアクリルアミド電気泳動（SDS-PAGE）を用いた。

*1 食品工業技術センター 保蔵技術室

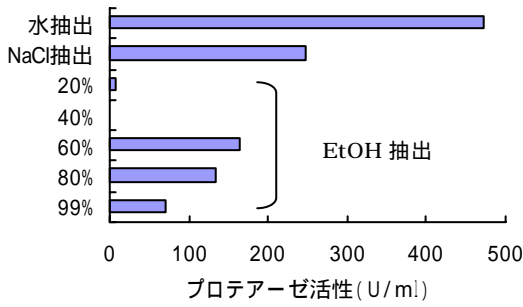


図1 抽出条件とプロテアーゼ活性
水抽出、1MNaCl 溶液抽出、20% ~ 99% : EtOH 抽出及びその濃度

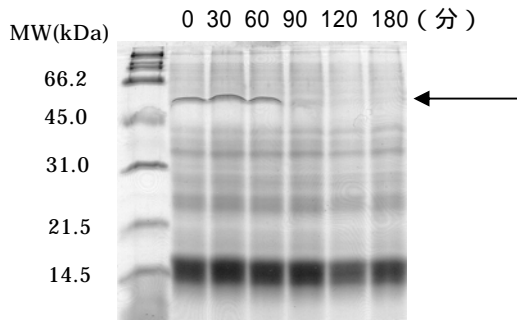


図3 発芽玄米酵素液による米たんぱく質の分解
各レーンの数字は発芽玄米酵素液と米たんぱく質を混合後の経過時間 (分)。矢印部分が 56kDa たんぱく質

3. 実験結果及び考察

3.1 酵素抽出条件と酵素活性

玄米 100 g を使用し、「光照射あり、30、グルコース添加なし、培養日数 1 日」の条件で調製した発芽玄米から水抽出、NaCl 溶液抽出、EtOH 抽出を行いそれぞれ酵素液を得た。それぞれの酵素液のプロテアーゼ活性測定したところ、水抽出で高いプロテアーゼ活性を確認した (図 1)。そこで以後の実験では、水抽出によって発芽玄米酵素液を調製した。

3.2 発芽条件と酵素活性

光 (有、無) 温度 (22.5、25、30、35)、栄養源 (グルコース 5%、無) 培養日数 (1 ~ 5 日) の各条件において培養した発芽玄米からの抽出たんぱく質量 (データ省略) プロテアーゼ活性 (図 2)、アミラーゼ活性 (データ省略) を測定した。その結果、「光照射あり、25、グルコース添加なし、培養日数 1 日」の条件 (図 2 (b)) で、アレルギーたんぱく質分解に適した高プロテアーゼ活性、低アミラーゼ活性の酵素液が得られた。

3.3 発芽玄米酵素液による米たんぱく質の分解

3.2 の結果に基づき、発芽玄米酵素液が米のどのたんぱく質を分解するか解析した。「光照射あり、25、栄養源添加なし、培養日数 1 日」の条件で調製した発芽

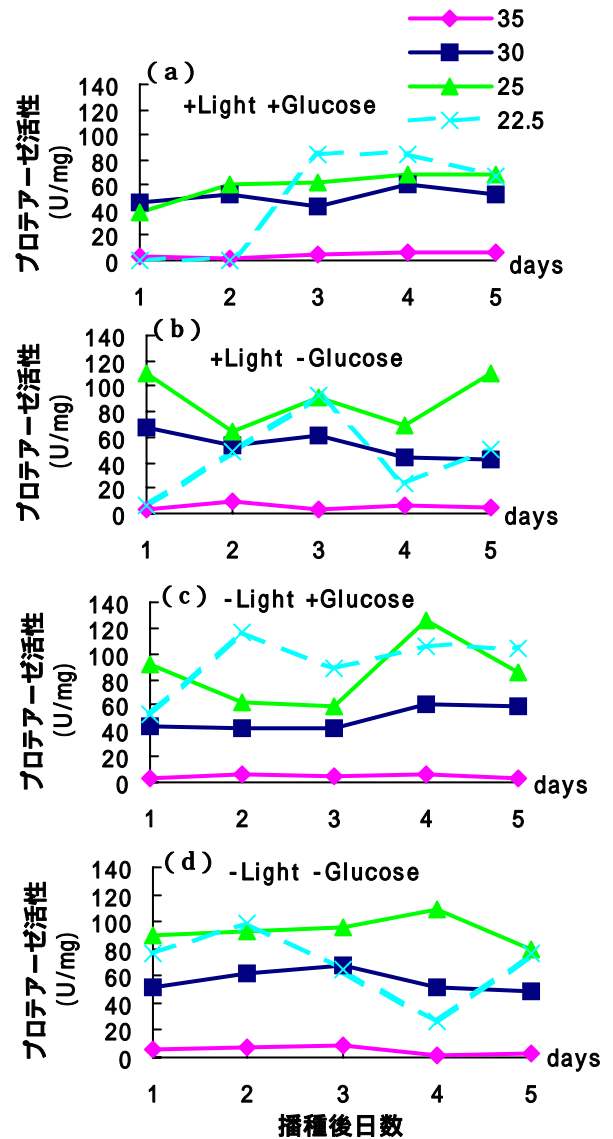


図2 発芽条件とプロテアーゼ活性
(a)光照射ありグルコースあり。(b)光照射ありグルコースなし。(c)光照射なしグルコースあり(d)光照射なしグルコースなし

玄米から得た酵素液を用い、米たんぱく質を分解した (図 3)。その結果、発芽玄米酵素液により 56kDa のたんぱく質を特異的に分解できることが判明した。

4. 結び

発芽玄米から水抽出によりプロテアーゼ活性の高い画分を抽出することができた。光照射あり、培養温度 25、グルコース添加なし、培養 1 日後の発芽玄米を用いることで、プロテアーゼ活性が高く、アミラーゼ活性が低い発芽玄米酵素液を得ることができた。この発芽玄米酵素液は、米たんぱく質のうち 56kDa たんぱく質を分解した。したがって、この発芽玄米酵素液は 56kDa たんぱく質をアレルギーとする穀物の低アレルギー化に有効と思われる。