

水稻白化苗澱粉磷酸解酶之純化與生化性質研究

許仁弘 楊健志 蘇仲卿 李平篤

國立臺灣大學農業化學系及生化科技學系

澱粉磷酸解酶 (starch phosphorylase, 簡稱 SP) 為參與植物澱粉代謝的重要酵素之一, 其催化由葡萄糖-1-磷酸 (Glc 1-P) 合成 α -1,4-葡聚糖 (α -1,4-glucan) 之可逆反應。在植物中, 普遍具有 H 與 L 型 SP。但是在水稻白化苗中, 我們發現水稻澱粉磷酸解酶 (rice starch phosphorylase, RSP) 以 H 型為主要型式, 而 L 型則極少, 目前已成功純化 H-RSP 蛋白質。以台農 67 號水稻白化苗為材料, 經硫酸銨分割、陰離子交換層析 (DEAE-Sepharose CL-6B)、親和層析 (dextrin-Sepharose 4B), 可得到均質 H-RSP。純化倍數約 300 倍, 回收率約 21%。經 FPLC Superose 12 膠體過濾鑑定, 其原態分子量為 145 kDa。由 SDS-PAGE 電泳, 得知其次單元體分子量為 85 kDa。最適反應 pH 值為 5; 最適反應溫度為 45~50°C。在合成方向上, H-RSP 對於 Glc 1-P 之 K_m 值為 2.1 mM; V_{max} 值為 5.85 U mg⁻¹。在磷解方向上, 對磷酸根之 K_m 值為 3.8 mM。並且對於支鏈澱粉、肝糖、可溶性澱粉及糊精之親和性高, 而對於麥芽寡糖 (malto-oligosaccharide, G₆₋₁₀) 親和性低。另外, H-RSP 對於糊精之 K_m 值, 為支鏈澱粉的 9 倍。環糊精六糖、環糊精七糖、環糊精八糖與麥芽四糖, 為 H-RSP 抑制劑。而 Mannose 1-P、Fru 6-P、ADPGlc、UDPGlc、AMP、IMP 與 PEP 也會抑制酵素活性。金屬離子 Ag⁺、Hg²⁺ 和 Zn²⁺ 會降低酵素活性。但硫醇基修飾化合物卻可促進酵素活性, 顯示其可能與酵素穩定性之維持有關。

關鍵詞：澱粉磷酸解酶；水稻；葡聚糖；糊精；親和性層析。

智慧藏