白ネズミ小腸のスクラーゼ-イソマルターゼ複合体の 精製ならびにその性状

佐々木 光美, 山田 和彦, 森内 幸子, 細谷 憲政

東京大学医学部保健学科保健栄養学教室

Purification and Characterization of Rat Intestinal Sucrase-Isomaltase Complex

Mitsuyoshi SASAKI, Kazuhiko YAMADA, Sachiko MORIUCHI,
Norimasa HOSOYA

*Department of Nutrition, School of Health Sciences, Faculty of Medicine,
University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo*

Sucrase-isomaltase complex (S-I) was purified from rat intestinal mucosa and its properties were observed in comparison with those of other species.

1. Rat intestinal S-I having maltase activity was purified from papain solubilized intestinal mucosa by the following ammonium sulfate fractionation, Sephadex G-200 column chromatography and DEAE Sephadex A-25 column chromatography.

2. The molecular weight of rat intestinal S-I was estimated as 215,000 by polyacrylamide disc gel electrophoresis.

3. K_m values of sucrase, isomaltase and maltase activities of the complex were 18.0, 4.0 and 3.7 mM, respectively. These enzyme activities were competitively inhibited by Tris. Furthermore, these enzyme activities were inhibited by heavy metal ions either completely (Ag^+ , Hg^{++}) or partially (Cu^{++} , Zn^{++}). Optimal pH was 6.0.

The properties of rat intestinal S-I were similar to those of other species.

(Received November 20, 1978)

小腸粘膜の刷子縁には、種々の二糖類水解酵素、アルカリホスファターゼ、アミノペプチダーゼなどの加水分解酵素が局在しており、食物の終末消化ならびに吸収に関与していることが知られている¹⁾²⁾。これらの二糖類水解酵素のなかで、スクラーゼとイソマルターゼとは、二量体の形で酵素-酵素複合体を形成して、小腸微絨毛膜に結合して存在し、糖質の吸収にも密接に関連している³⁾。ウサギのスクラーゼ-イソマルターゼ複合体 (S-I 複合体) については、詳細な研究がなされているが⁴⁾、白ネズミについてはその性状は明らかでない。そこで、成熟白ネズミの小腸粘膜から S-I 複合体を精製し、その標品について、至適 pH、各基質に対する K_m 値、 V_{max} 値ならびに阻害剤の影響などについて観察してみた。

実験方法

1. スクラーゼ-イソマルターゼ複合体の精製

白ネズミ小腸粘膜の S-I 複合体の精製は、Kolinska ら⁵⁾の方法を少しく改変して行なった。体重約 500 g の Sprague-Dawley 系雄白ネズミ 20 匹より採取した小腸粘膜約 60 g に、5 倍量の 0.5 M NaCl ならびに 0.5 M KCl を含む 5 mM EDTA 緩衝混液 (pH 7.0) を加えて、Waring Blender を用いてホモジネートとした。60,000×g, 60 分間冷却遠心した後、上清を捨て、沈渣を最初と同量の 10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) に分散し、再び 60,000×g, 60 分間冷却遠心した。この沈渣に、パパイン 30 mg、システイン塩酸 30 mg、ならびに 10 mM リン酸カリウム緩衝液 100 ml を混和後、37°C, 60 分間温置して、微絨毛膜から二糖類水解酵素を可溶化した。

この画分を $105,000 \times g$, 60 分間冷却遠心した後, 上清画分について硫安分画を行なった。硫安 45% 飽和と 65% 飽和の間に得られた沈澱画分を 10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) 6 ml に溶解して, 10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) に対して透析後, 同じ緩衝液で平衡化したセファデックス G-200 カラム (2.5×75 cm) にかけて, 10 mM リン酸カリウム緩衝液を用いて溶出した。S-I 複合体の溶出する部分を集め, 凍結乾燥後, 10 mM リン酸カリウム緩衝液 6 ml に溶解して 10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.0) に対して透析後, 再びセファデックス G-200 カラムクロマトグラフィーを行なった。

さらに, セファデックス G-200 カラムから溶出されてくる S-I 複合体の画分を, 10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) を用いて平衡化した DEAE セファデックス A-25 カラム (1.5×15 cm) にかけて, リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) を 10 mM から 500 mM まで変化させて溶出した。溶出されてくるスクラーゼならびにイソマルターゼ活性をもつ画分を, S-I 複合体の精製標品とした。

2. ポリアクリルアミドディスク電気泳動

ポリアクリルアミドを用いるディスク電気泳動は, Davis⁹⁾ の方法にしたがって行なった。各精製段階のたん白質パターンを観察する場合には, 分離用アクリルアミド床は 0.5×7.0 cm の 6.0% アクリルアミド, 電極槽用緩衝液は, 0.05 M トリス-グリシン緩衝液 (pH 8.3) を用い, ゲル 1 本当たり 2 mA の電流を 90 分間 (25°C) 通電して泳動を行なった。泳動終了後, 1% Amide Black 10B を用い 60 分間染色し, 7% 酢酸で脱色した。

一方, 精製した S-I 複合体の分子量を求める場合には, Hedrick らの方法⁷⁾に従って行なった。緩衝液は先の場合と同様であるが, 分離用アクリルアミドの濃度を 4%, 6%, 8% としたもので泳動した。泳動終了後, ただちにゲルを凍結して, 1 mm 間隔に輪切にし, 1 mm 画分ずつ 0.3 ml の水に酵素を溶出させて, 活性を測定した。その結果から Fergusson プロットを行ない, あらかじめ得た標準曲線から分子量を求めた。分子量を求めるために用いた標準たん白質は, ovalbumin, albumin, γ -globulin ならびに, apoferritin である。なお, 試料はグリセロールを用いて比重を重くし, ゲル当たり 0.1 ml を泳動に供した。

3. 酵素活性ならびにたん白質量の測定

二糖類水解酵素活性は, グルコースオキシダーゼ法を用いる Dahlqvist の方法⁹⁾に従った。0.1 M マレイン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.0) に, ショ糖ならびにマルトースの場合には 56 mM, イソマルトースの場合には 5.6

mM に溶解したものを基質液とした。

セファデックス G-200 カラムの溶出画分の酵素活性を測定する場合には, セファデックスを構成しているデキストランは二糖類水解酵素により少量分解されてブドウ糖を溶出するので, このブドウ糖を差し引いて活性値を表わした。

アルカリホスファターゼ活性は, *p*-ニトロフェニルリン酸を基質とする Lowry らの方法⁹⁾により測定した。生成された *p*-ニトロフェノール量は, *p*-ニトロフェノールの分子吸光係数 15,300 から求めた。

アミノペプチダーゼ活性は, L-ロイシル- β -ナフチルアミド塩酸を基質とする Goldbarg らの方法¹⁰⁾に従った。

たん白質量の測定は, Lowry らの方法¹¹⁾に従い, 標準曲線は牛血清アルブミンを用いて作成した。

酵素活性値は, たん白質 1 mg が 1 時間に水解する基質量を μ mole の単位を用いて表わし, カラムクロマトグラフィーの溶出画分については, 溶出液 1 ml が 1 時間に水解する基質量を μ mole の単位で表わした。吸光度は, 日立 Perkin-Elmer 139 型分光光度計を用いて測定した。

4. 試 薬

パバインは Worthington Biochemical Co. より, セファデックス G-200 ならびに DEAE Sephadex A-25 は Pharmacia Fine Chem. より, Tris は Sigma 社より購入した。アクリルアミドは東京化成 K. K. より, 分子量測定のための標準たん白質は Schwarz/Mann 社より購入した。グルコスタット試薬は藤沢薬品 K. K. より, ショ糖は国産化学より, マルトースは和光純薬より購入した。L-ロイシル- β -ナフチルアミド塩酸は Sigma 社製品を用い, *p*-ニトロフェニルリン酸ナトリウムは和光純薬 K. K. より購入した。

イソマルトースは林原生物化学研究所のご好意により供与いただいた。

実 験 結 果

1. 白ネズミ小腸粘膜のスクラーゼ-イソマルターゼ複合体の精製

白ネズミ小腸粘膜から微絨毛膜に存在する S-I 複合体を, パバインによる可溶化, 硫安分画, カラムクロマトグラフィーを用いて精製した。

1) セファデックス G-200 カラムクロマトグラフィー S-I 複合体は, デキストランからなる Sephadex と酵素-基質様の吸着によって, 予想される溶出位置よりも遅く溶出される⁹⁾といわれている。そこで, パバインを用いて膜から可溶化後, 硫安分画法によって得られた二糖類水解酵素を, セファデックス G-200 カラムクロマ

Fig. 1. Elution profiles of Sephadex G-200 column chromatography of rat intestinal disaccharidases.

Rat intestinal disaccharidases were solubilized by papain and then followed by ammonium sulfate fractionation. Ammonium sulfate fractionated disaccharidases (58 mg protein) were applied to Sephadex G-200 column (2.5×75 cm) equilibrated with 10 mM potassium phosphate buffer and eluted by the same buffer. 8 ml fractions were collected and their aliquots were used for the enzyme assay.

トグラフィーによって分画した。

void volume の溶出位置にマルターゼ活性の大きな山が観察された。それに遅れて、スクラーゼ活性ならびにイソマルターゼ活性がほぼ同じ割合に溶出した。これらの活性の溶出位置にマルターゼ活性の小さな山が観察された (Fig. 1)。void volume のマルターゼを除くために、分画番号 31 から 45 までの S-I 複合体溶出画分を集めて凍結乾燥法により濃縮後、再びセファデックス G-200 カラムクロマトグラフィーを行なった。void volume にマルターゼ活性はわずかに観察されたが、この過程により、マルターゼ活性の多くを占めるグルコアミラーゼは大部分除かれた。分画番号 31 から 42 を集めて、ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動してみると、この画分にはまだごく少量のグルコアミラーゼが検出された。それゆえ、さらに DEAE セファデックス A-25 を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行なった。

2) DEAE セファデックス A-25 カラムクロマトグラフィー リン酸カリウム緩衝液の濃度を 10 mM から 500 mM まで変化させて溶出すると、約 70 mM の濃度の溶出位置に、スクラーゼ、イソマルターゼ、ならびにマルターゼ活性が同じ割合に溶出した (Fig. 2)。この分画番号 38 から 40 の画分を集めて、S-I 複合体の最終精製標品とした。

3) 各精製段階におけるスクラーゼ-イソマルターゼ複合体の酵素活性 スクラーゼ、イソマルターゼならびにマルターゼは、精製が進むにつれて、比活性が高くなっており、精製 S-I 複合体においてはホモジネートに

Fig. 2. DEAE-Sephadex A-25 column chromatography of disaccharidases Eluted from Sephadex G-200 column.

Eluates from the second Sephadex G-200 column chromatography (fraction 31-42) were applied to DEAE Sephadex A-25 column (1.5×15 cm) equilibrated with 10 mM potassium phosphate buffer and eluted by changing the concentration of potassium phosphate buffer from 10 mM to 500 mM. 4.0 ml fractions were collected and their aliquots were used for the enzyme assay. ● : sucrase, ○ : isomaltase, × : maltase, Δ : protein (E_{280})

くらべて、スクラーゼ活性は 140 倍、イソマルターゼ活性は 96 倍、マルターゼ活性は 36 倍であった (Table 1)。それに対してアルカリホスファターゼ、アミノペプ

Table 1. Enzyme activities at each step in sucrase-isomaltase complex purification.

	Total protein (mg)	Enzyme activities (μ moles-substrate hydrolyzed/hr/mg-protein)				
		Sucrase	Isomaltase	Maltase	Al-Pase*	LADase**
Homogenate	4,130	6.36 (100)	4.22	32.9	—	—
60,000 $\times g$ precipitate	1,230	14.9 (69.7)	10.7	65.3	138	168
Papain solubilized supernatant	392	30.0 (43.2)	21.1	125	168	29.0
Ammonium sulfate fraction	58.0	145 (32.3)	82.8	532	1,020	163
Sephadex G-200 fraction	7.35	494 (13.8)	206	646	N D	N D
DEAE Sephadex A-25 fraction	2.51	884 (7.3)	407	1,190	N D	N D

* Alkaline phosphatase, ** Leucine aminopeptidase. Parentheses mean the recovery at each step. ND; not detectable

Table 2. Relative activities at each step.

	Sucrase	:	Isomaltase	:	Maltase
Homogenate	1		0.664		5.17
60,000 $\times g$ precipitate	1		0.718		4.38
Papain solubilized supernatant	1		0.703		4.17
Ammonium sulfate fraction	1		0.571		3.67
Sephadex G-200 fraction	1		0.417		1.31
DEAE Sephadex A-25 fraction	1		0.460		1.35

Values represent the ratio of specific activities.

チダーゼは、セファデックス G-200 カラムクロマトグラフィーによって完全に取り除かれた。スクラーゼの回収率は 7.3% となっており、約 60 g の小腸粘膜から 2.5 mg の S-I 複合体が得られた。各精製段階においてスクラーゼの比活性を 1 とすると、精製が進むにつれてイソマルターゼはおよそ 0.5 と、ほぼ一定の値に精製されていた (Table 2)。それに対してマルターゼはセファデックス G-200 カラムクロマトグラフィーの段階で著しく減少した。それ以後においては、スクラーゼ、マルターゼ、イソマルターゼ活性の比はほぼ一定であった。

4) 各精製段階におけるディスク電気泳動法によるたん白質の泳動パターン 精製の程度を観察するために、パバイン処理後の上清画分、セファデックス G-200 カラムクロマトグラフィー後の画分、ならびに精製 S-I 複

合体標品について、ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動を行なった。

いずれの場合にも、易動度が 0.2 の位置に強いバンドが観察され、この位置に一致してスクラーゼ、イソマルターゼならびにマルターゼ活性が観察された (Fig. 3)。なお、パバイン処理後の上清画分、ならびにセファデックス G-200 カラムクロマトグラフィー後の画分には、S-I 複合体のバンドのほか、易動度 0.09 の位置にもバンドが観察された。この位置に、パバイン処理後の上清画分の場合には、強いマルターゼ活性が、セファデックス G-200 カラムクロマトグラフィー後の画分には、わずかのマルターゼ活性が観察された。しかしながら、精製 S-I 複合体標品の場合には、この位置にマルターゼ活性は観察されなかった。DEAE セファデックス A-25

Fig. 3. Electrophonograms of rat intestinal sucrase-isomaltase complex.

Polyacrylamide gel disc electrophoresis was carried out according to the method of Davis. Gel concentration was 6.0% in acrylamide at pH 8.3 in tris-glycine buffer. A: Papain solubilized fraction, B: Sephadex G-200 eluted fraction, C: Purified sucrase-isomaltase complex.

カラムクロマトグラフィーにより, void volume のマルターゼ活性は完全に除かれたことがわかる。

2. 白ネズミ小腸粘膜のスクラーゼ-イソマルターゼ複合体の性質

1) 分子量 アクリルアミドの濃度を変えるディスク電気泳動を用いる Hedrick らの方法⁷⁾に従って, 精製した S-I 複合体の分子量を求めてみた。

いずれのアクリルアミドの濃度の場合にも, スクラーゼ, イソマルターゼならびにマルターゼ活性は同じ易動度を示し, その分子量は 215,000 と推定された (Fig. 4)。

2) スクラーゼ-イソマルターゼ複合体のミカエリス定数 (K_m 値), 最大反応速度 (V_{max} 値) ならびに Tris の阻害定数 (K_i 値) 白ネズミ S-I 複合体について, 各基質に対する K_m 値, V_{max} 値および Tris の K_i 値を求めてみた (Fig. 5)。スクラーゼ, イソマルターゼならびにマルターゼ活性の K_m 値は, それぞれ 18.2, 4.0, 3.7 mM であり, V_{max} 値はそれぞれ 1520, 940, 1110 $\mu\text{moles-substrate-hydrolyzed/mg-protein/hr}$ であっ

Fig. 4. The slope-molecular weight relation of sucrase-isomaltase complex and standard proteins.

The molecular weight of purified sucrase-isomaltase complex was estimated according to the method of Hedrick *et al.*

a: Ovalbumin ($M.W.$ 45,000), b: Albumin monomer, ($M.W.$ 67,000), c: Albumin dimer ($M.W.$ 134,000), d: γ -Globulin ($M.W.$ 160,000), e: Albumin trimer ($M.W.$ 201,000), f: Apoferritin ($M.W.$ 480,000), arrow: sucrase-isomaltase complex.

た。さらに基質に阻害剤の Tris を 0.5 mM 加え, kinetics を行なった。その結果スクラーゼ, イソマルターゼ, マルターゼのどの酵素活性の場合にも, Tris は拮抗的に阻害し, その K_i 値はそれぞれ 1.80, 0.64, 1.62 mM であった。

3) スクラーゼ-イソマルターゼ複合体に対する重金属イオンの影響 この酵素標品について, 重金属イオンの影響を観察してみた。おのおのの基質液に反応液中 1 mM になるように重金属イオンを加えた場合と, 重金属イオンを加えない場合の活性値を比較してみた (Table 3)。 HgCl_2 , AgNO_3 は, スクラーゼ, イソマルターゼ, マルターゼ活性ともに完全に阻害した。一方, ZnSO_4 を加えた場合には, スクラーゼ活性を 15.1%, イソマルターゼ活性を 12.6%, マルターゼ活性を 17.1% 阻害した。 CuSO_4 を加えた場合には, それぞれ 90.3%, 48.4%, 82.5% 活性を阻害した。

4) スクラーゼ-イソマルターゼ複合体の酵素活性に対する pH の影響 白ネズミ S-I 複合体のスクラーゼ, イソマルターゼならびにマルターゼの各活性の至適 pH を観察してみた。

いずれの酵素活性も, 至適 pH は 6.0 であった。スクラーゼ活性は, pH 6 以下では急速に減少したが, pH 6 以上においては, 減少はよりゆるやかであった。一方, イソマルターゼ活性ならびにマルターゼ活性は, pH 5 においてもかなり存在するが, スクラーゼ活性と同様に,

Fig. 5. Lineweaver Burk-plot of sucrase, isomaltase and maltase activities with or without 0.5 mM tris.

The hydrolysis of sucrose, isomaltase and maltase by purified sucrase-isomaltase complex was measured with or without 0.5 mM tris in 0.05 M sodium maleate buffer (pH 6.0). Their V_{max} , K_m and K_i values were shown in the inserted table.

Table 3. Effect of various heavy metals on disaccharidases activities.

Metal ion	Sucrase	Isomaltase	Maltase
None	100	100	100
Hg ⁺⁺	0	0	0
Ag ⁺	0	0	0
Zn ⁺⁺	84.9	87.4	82.9
Cu ⁺⁺	9.7	51.6	17.5

Each incubation mixture contained 0.05 M sodium maleate buffer (pH 6.0), 28 mM sucrose, maltose or 2.8 mM isomaltose and 0.5 mM heavy metal ion. Disaccharidases activities were expressed as % remained activities.

酸性側において急激に減少した (Fig. 6).

考 察

白ネズミ小腸粘膜のスクラーゼ-イソマルターゼ複合体を、パパインによる可溶化、硫安分画、カラムクロマトグラフィーを用いて精製し、その性質について観察した。

ウサギ小腸粘膜のS-I複合体については、数多くの報告がなされており、吸収上皮細胞の微絨毛膜にイソマルターゼ部分によって結合しているといわれている³⁾⁴⁾¹²⁾。

Fig. 6. pH activity curve of purified sucrase-isomaltase complex in rat intestine.

Buffers: 0.05 M Glycine-HCl, pH 2.0-3.5; 0.05 M Na-Acetate, pH 3.5-5.5; 0.05 M Na-Maleate, pH 5.0-7.0; 0.025 M HCl-diethylbarbituric acid, pH 7.0-9.0.

●: sucrase, ○: isomaltase, ×: maltase

たん白質分解酵素であるパパインは、この部分を水解して酵素活性をそこなわずに可溶化する。さらに、S-I複合体はセファデックス G-200 に吸着作用を示すので、著者らも、セファデックス G-200 カラムクロマトグラフィーをアフィニティークロマトグラフィーとして用い、S-I複合体を他のたん白質から分離精製した。精製過程においては、アルカリホスファターゼ、アミノペプチダーゼは、硫安分画の段階までは、二糖類水解酵素と

同様にその活性は観察されるが、セファデックスカラムクロマトグラフィーを2度行なうことによって完全に除かれた。一方、二糖類水解酵素は精製が進むにつれてその比活性は上昇し、スクラーゼ活性に対するイソマルターゼ活性の比は、約0.5に一定に保たれた。しかしながら、スクラーゼ活性に対するマルターゼ活性の比は、セファデックス G-200 カラムクロマトグラフィーを行なうことにより著しく減少し、その後は一定に保たれた。このことはグルコアミラーゼによるマルターゼ活性が除かれたことを示す。さらに、DEAE セファデックス A-25 カラムによる溶出においては、スクラーゼ活性、イソマルターゼ活性ならびにマルターゼ活性いずれも、同様の溶出パターンを示しているの、マルターゼ活性をもつ S-I 複合体として精製されているものと思われる。

各精製段階の画分についてディスク電気泳動を行なった結果、ババイン処理後の上清画分において観察された S-I 複合体よりも易動度の小さいマルターゼ活性をもつたん白質のバンドは、精製 S-I 複合体画分においてはまったく観察されなかった。また、いずれの画分の電気泳動の場合にも、S-I 複合体のたん白質のバンドにマルターゼ活性が観察された。それゆえ、最終精製酵素標品のこれら3種の酵素活性は単一の複合体たん白質によるものと思われる。

ポリアクリルアミドの濃度を変化させて行なうディスク電気泳動法を用いて、白ネズミ小腸粘膜の S-I 複合体の分子量を測定した結果、約215,000であった。ウサギにおいては22万前後¹²⁾¹³⁾、ヒトにおいては28万¹⁴⁾と報告されており、白ネズミの場合も、これらと比較してほぼ同じ大きさの複合体であると考えられる。

次に、S-I 複合体の各酵素活性について、 K_m 値、 V_{max} 値ならびに Tris の K_i 値を観察した。スクラーゼ活性の K_m 値は、18.2 mM であり、ウサギの 8~10 mM⁹⁾¹³⁾、ニワトリの 16.4 mM¹⁵⁾ と比較すると、ニワトリの場合に近い値を示した。イソマルターゼ活性の K_m 値は、ウサギでは 5 mM、ニワトリでは 3.1 mM と報告されており、いずれも白ネズミの 4.0 mM の値に近いものであった。二糖類水解酵素の拮抗阻害剤の Tris の K_i 値は、いずれの場合も 1 mM 前後であり、他の報告の場合⁹⁾¹⁶⁾と同程度の値であった。

さらに、S-I 複合体の酵素活性に対する重金属の影響について観察した。スクラーゼ活性は Hg^{++} 、 Ag^+ により完全に阻害され、 Cu^{++} 、 Zn^{++} によっても部分的に阻害された。ウサギの場合にも、 Hg^{++} 、 Ag^+ によりスクラーゼ活性は完全に阻害され、 Cu^{++} 、 Zn^{++} により約50% 阻害される¹⁴⁾と報告されており、白ネズミの S-I 複合体も同様の性質を示すものと思われる。

一方、S-I 複合体の各酵素活性の至適 pH を観察する

と、いずれも pH 6.0 であった。この値は、他の多くの報告と一致するものであった。

精製した白ネズミ小腸粘膜の S-I 複合体には、かなり強いマルターゼ活性が存在している。ウサギの S-I 複合体にもマルターゼ活性が存在して、その活性は、スクラーゼ部分にもイソマルターゼ部分にもある⁹⁾といわれるが、白ネズミにおいては明らかではない。S-I 複合体は、ほぼ同じ分子量のスクラーゼ部分とイソマルターゼ部分からなると考えられているが、マルターゼ活性がどちらの部分によるものか、それとも、S-I 複合体はスクラーゼ、イソマルターゼならびにマルターゼの三量体であるかは現在検討中である。

要 約

白ネズミ小腸粘膜からスクラーゼ-イソマルターゼ複合体を精製して、その性質について観察し、他の動物のスクラーゼ-イソマルターゼ複合体と比較検討した。

1) 白ネズミ小腸粘膜の S-I 複合体をババインを用いて可溶化し、硫酸分画、セファデックス G-200 カラムクロマトグラフィー、DEAE セファデックス A-25 カラムクロマトグラフィーを行なうことにより、マルターゼ活性をもつ単一の酵素標品を得た。スクラーゼ活性は140倍、イソマルターゼ活性は96倍に上昇した。

2) S-I 複合体の分子量は、ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法により215,000と推定された。

3) スクラーゼ、イソマルターゼならびにマルターゼ活性の K_m 値はそれぞれ18, 4.0, 3.7 mM であり、いずれの酵素活性も、Tris により拮抗的に阻害され、また重金属イオンの Ag^+ 、 Hg^{++} により完全に阻害され、 Cu^{++} 、 Zn^{++} により部分的に阻害された。至適 pH は、いずれも pH 6.0 であった。

以上のことから、白ネズミ小腸粘膜から精製された S-I 複合体は、単一の酵素たん白質であり、その性質はウサギ、ヒト、ニワトリなどの S-I 複合体と同様の性質をもつものであることが明らかになった。

文 献

- 1) Ugolev, A.M. : *Physiol. Rev.*, 45, 555 (1965)
- 2) Malathi, P., Ramaswamy, K., Caspary, W.F. and Crane, R.K. : *Biochim. Biophys. Acta*, 307, 613 (1973)
- 3) Kolinska, J. and Semenza, G. : *Biochim. Biophys. Acta*, 146, 181 (1967)
- 4) Takesue, Y., Tamura, R. and Nishi, Y. : *Biochim. Biophys. Acta*, 483, 375 (1977)
- 5) Kolinska, J. and Kraml, J. : *Biochim. Biophys. Acta*, 284, 235 (1972)
- 6) Davis, B.J. : *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121, 404 (1964)
- 7) Hedrick, J.L. and Smith, A.L. : *Arch. Biochem. Biophys.*, 126, 155 (1968)

- 8) Dahlqvist, A. : *Anal. Biochem.*, **7**, 18 (1964)
- 9) Lowry, O.H. : Methods in Enzymology (Colowick, S.P. and Kaplan, N.P., ed.), Vol. 4, p. 371 (1957), Academic Press (New York)
- 10) Goldbarg, J.A. and Rutenburg, A.M. : *Cancer*, **11**, 283 (1958)
- 11) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
- 12) Mosimann, H., Semenza, G. and Sund, H. : *Eur. J. Biochem.*, **36**, 489 (1973)
- 13) Takesue, Y. : *J. Biochem.*, **65**, 545 (1969)
- 14) Conklin, K.A., Yamashiro, K.M. and Gray, G.M. : *J. Biol. Chem.*, **250**, 5735 (1975)
- 15) Siddons, R.C. : *Biochem. J.*, **112**, 51 (1969)

(昭和 53 年 11 月 20 日受理)