

# 大麦の細胞壁構成多糖類の生合成機構の解明 Biosynthesis of Cell Wall Polysaccharides in Barley

円谷 陽一  
Yoichi Tsumuraya

埼玉大学 理学部分子生物学科

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Science, Saitama University

本研究は農林水産省のプロジェクト研究「麦類の新品種育成及び品質制御技術の開発」(平成11~13年度)の一課題(受託研究)である。

## 1. 研究目的

大麦胚乳細胞壁の主要成分である(1-3,1-4)- $\beta$ -グルカンならびにアラビノキシランは穀粒の品質形成段階に大きな影響をおよぼしている。(1-3,1-4)- $\beta$ -グルカン、アラビノキシランは食物繊維、胚乳組織の硬軟質性・搗精効率、食品加工、等でも関心が持たれている。本研究は、大麦登熟過程の種子の(1-3,1-4)- $\beta$ -グルカンとアラビノキシランの合成に関わる酵素の性質を明らかにし、それら多糖の合成の仕組みを明らかにすることを目的とする。

## 2. 本年度の研究成果概要

### (1) (1-3,1-4)- $\beta$ -グルカン合成酵素

つくば市の作物研究所圃場で栽培された開花後3週目の大麦(四国裸97号)種子から胚乳を調製した。胚乳を緩衝液中でホモジェナイズし、超遠心分離して得られる粗膜画分を酵素源として用いた。反応産物の解析にはNovo社の酵素剤BAN 240Lから精製したリケナーゼ(エンド-(1-3,1-4)- $\beta$ -グルカナーゼ)を用いた。(1-3,1-4)- $\beta$ -グルカン合成酵素(GTase)の反応は、酵素タンパク質を2 mM UDP-[ $^{14}$ C]グルコース(Glc)(0.08  $\mu$ Ci)とインキュベートして行った。生じた高分子画分をリケナーゼで分解し、オリゴ糖断片(Glc  $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4 Glc  $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3Glc)の放射活性から酵素活性を求めた。酵素反応の最適温度は20 $^{\circ}$ C、最適pHは8.0で活性発現にはMg $^{2+}$ を要求する。比活性は200~500 pmol/min/mg proteinである。

### (2) キシロース転移酵素

アラビノキシランの合成に関わるキシロース転移酵素(XTase)はUDP-キシロース(Xyl)を供与体としてピリジルアミン(PA)で蛍光標識した $\beta$ -1,4-キシロトリオースを受容体として反応を行い、Xyl転移産物を逆相系HPLCで分離、定量して活性を求めた。酵素反応によって一残基のXylが転移されて

〒338-8570 浦和市下大久保 255 電話：048-858-3401 FAX：048-858-3384

Email：tsumura@molbiol.saitama-u.ac.jp

Xyl<sub>4</sub>-PA が検出され、反応時間が長くなるとさらに鎖長が伸長した Xyl<sub>5</sub>-PA と Xyl<sub>6</sub>-PA も検出された。酵素の最適作用 pH は 6.9、最適作用温度は 20℃である。Triton X-100 の添加で活性は 4~5 倍に高まり、Mn<sup>2+</sup> の存在で約 2 倍高まる。酵素の比活性は 400~800 pmol/min/mg protein である。

(3) 成長に伴う胚乳細胞壁多糖の構成糖含量と多糖合成酵素の活性変動

成長段階の異なる四国裸 97 号について GTase と XTase 活性を測定した。四国裸 97 号大麦の胚乳細胞壁多糖の構成糖含量は各成長段階ともアラビノース(Ara)<Xyl<Glc の構成糖比だが、完熟するにつれ Glc((1-3,1-4)-β-グルカン)含量が高まる(図 1A)。GTase は開花後 19 日目の胚乳で活性が高まり、その後は低下する(図 1B)。XTase は GTase よりやや早め(開花後 13-15 日)に最大活性を示す。

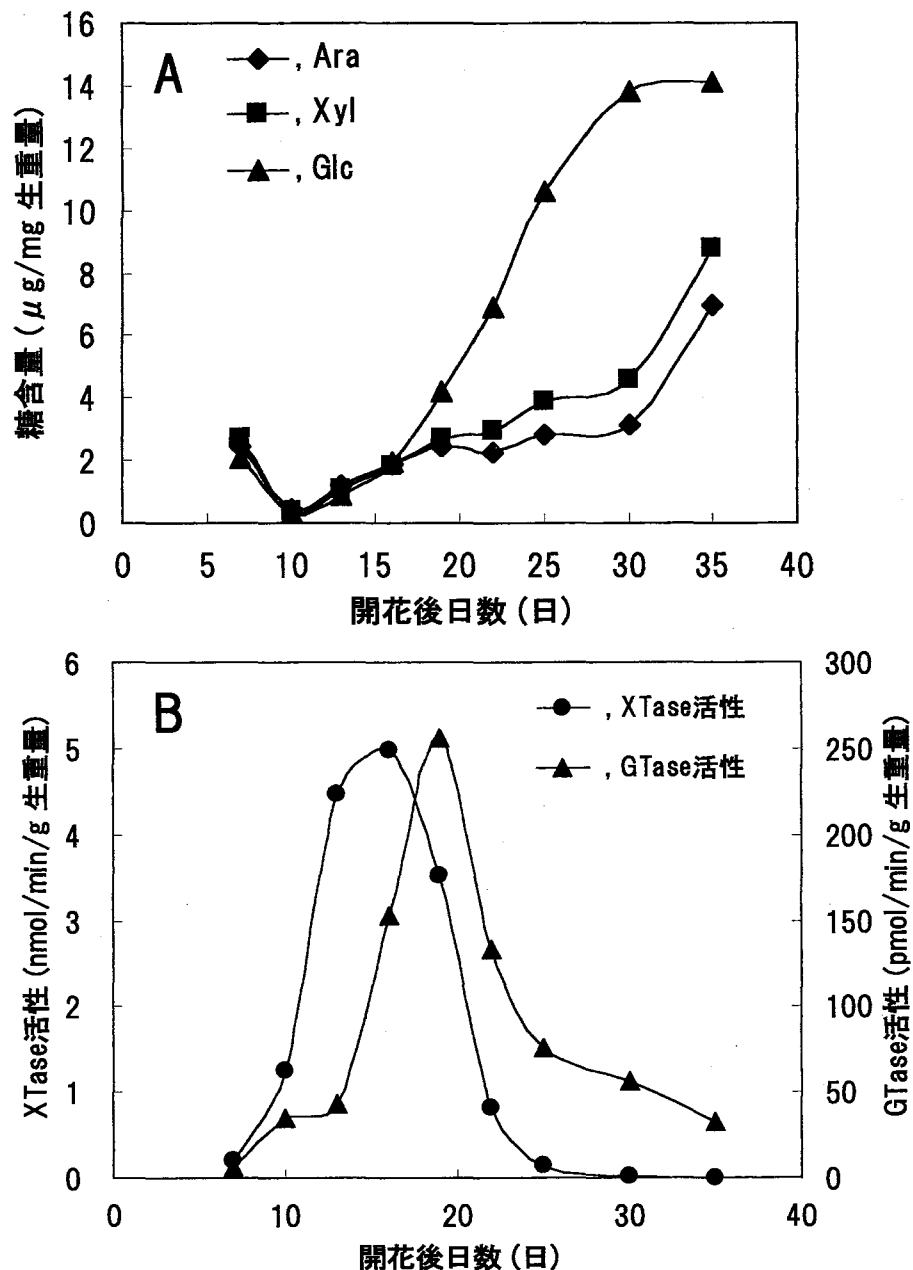


図1 大麦胚乳の成長に伴う細胞壁構成糖含量(A)と多糖合成酵素活性(B)の変化

(4) 異なる品種の胚乳細胞壁多糖の構成糖含量と多糖合成酵素

開花後三週目の異なる品種の胚乳細胞壁多糖の構成糖含量、搗精効率、GTase と XTase 活性を図 2 に示す。Riso M56、M-737、栃系 259、栃系 251 では(1-3,1-4)- $\beta$ -グルカン含量が低く搗精効率が高い。Riso M56 では GTase 活性が著しく低下しており、GTase 活性が $\beta$ -グルカン含量の制御に重要な役割を担っていると考えられる。一方、Carlsberg II、M86 ではグルカン含量が高く搗精効率が低い。アラビノキシラン含量(Ara と Xyl 含量の和)も品種間での変動が認められる。しかしながら、Xyl 含量の比較的高い Carlsberg II では XTase 活性が低く、Xyl 含量の比較的低い M-737 では活性が高く、アラビノキシラン含量と XTase 活性には相関性が認められない。

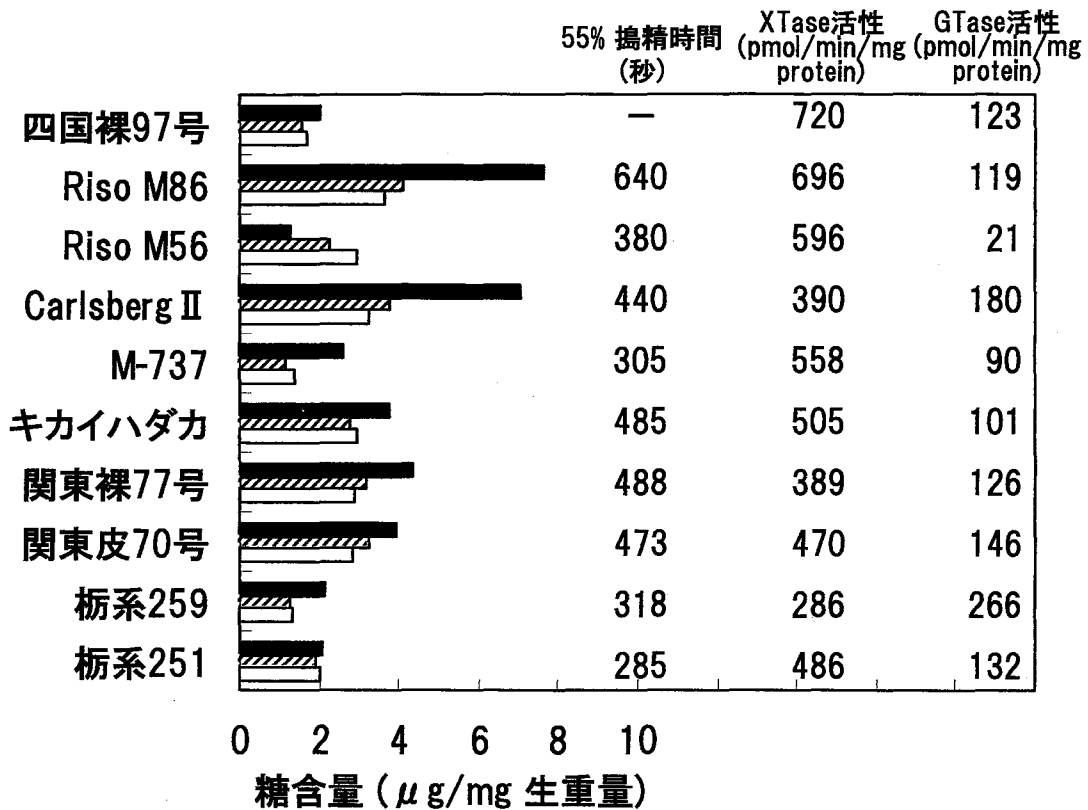


図2 異なる品種の胚乳細胞壁構成糖含量、搗精時間、XTase活性とGTase活性の比較

□, Ara ; ▨, Xyl ; ■, Glc

学会発表

浦原、土屋、小竹、円谷、河田、小前(2002) 植物生理学会要旨集 p.135