

1Dp-14

水稻培養細胞の細胞壁結合 α -グルコシダーゼの性質

山崎良樹, 今野晴義 (岡山大・農生研)

α -グルコシダーゼは、生体内で各種アミラーゼと共に澱粉およびグリコーゲン分解を行うと考えられ、それ以外の生理作用は不明であった。しかし最近、糖蛋白質のN-グリコシド型糖鎖の生合成に関与する α -グルコシダーゼの存在が報告された¹⁾。我々も超音波破砕した水稻培養細胞の食塩抽出残渣中に著量の α -グルコシダーゼと同酵素作用を受ける非澱粉性画分が存在することを示し、上記以外の α -グルコシダーゼの生理作用を示唆した²⁾。今回は、本酵素の細胞内での存在形態および酵素的諸性質について報告する。

R2液体培地中で15日間振盪培養して得た水稻細胞(細胞)を0.5Mマニトール液中に懸濁し、予のDMEAセファデックスおよびセファデックスG-100カラムクロマトグラフィーで精製したスミチームとペクトリナーゼY-23を混合して28℃で反応した。本酵素は、このプロトプラスト化で上澄液中に遊離した。2時間後、得られた上澄液から本酵素を硫酸分画およびセファデックスG-200, CM-セルロースカラムクロマトグラフィーで精製した。本酵素は、セファデックスG-200カラムクロマトグラフィーでスミチームおよびペクトリナーゼY-23と分離された。また細胞残渣(残渣)は、超音波破砕した細胞から緩衝液可溶画分と食塩可溶画分を除去して調製された。

残渣をドリセラゼと α -アミラーゼで十分に反応させると、残渣中の糖の85.4%が遊離されたが、本酵素は可溶化されなかった。未分解の残渣中には構成糖としてグルコース、アラビノース、キシロース、ガラクトースが認められた。未分解の残渣をさらに高濃度の塩、界面活性剤、8M尿素と0.1M亜硫酸ナトリウムの混合液で処理しても本酵素は可溶化されなかった。また残渣にプロナーゼを短時間作用させ蛋白質の20.6%を可溶化したが、本酵素は可溶化されなかった。しかし上述したように細胞をプロトプラスト化すると本酵素は可溶化された。このため本酵素は、膜結合あるいはラース結合により不溶化しているのではなく、非セルロース性グルカン、キシログルカン、アラビノガラクトンのような細胞壁多糖と強く結合していると考えられる。

本酵素は、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース、イソマルトースに非常に強く作用した。また可溶性澱粉に作用し、グルコースを遊離した。本酵素はマルトースから主転移生成物としてパノースを生成した。本酵素の最適温度は50~55℃、最適pHは4.0~5.0、熱安定性は50℃まで、pH安定性は4.0~5.0であった。

1) Grinna, L. S. and P. W. Robbins (1979) J. Biol. Chem., 254, 8814-8818.

2) Yamasaki, Y. and H. Konno (1987) Phytochemistry, in press.