

2B-8

ソルガムのシアノ配糖体生合成におけるニトリル中間体の証明

○島田 幹夫(京大・木研)

Eric E. Conn (Dept. Biochem, U.C. Davis)

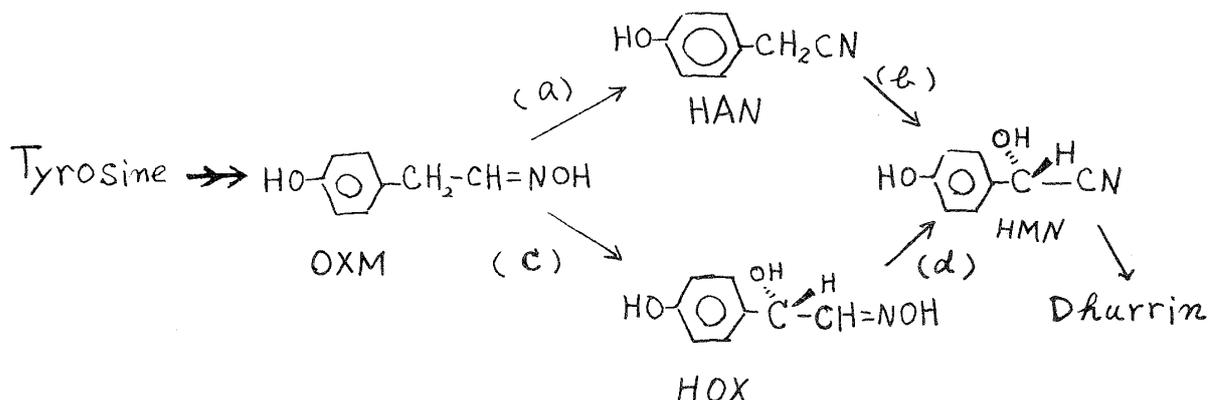


Fig. 1. チロシンに由来する Dhurrin 生合成の代謝経路

目的; ソルガムに含まれるシアノ配糖体, Dhurrin [(S)-p-hydroxymandelonitrile-β-D-glucoside] は, チロシンから p-hydroxyphenylacetaldoxime (OXM) を経て生合成されることが知られていたが, この際, 図示したように, p-hydroxyphenylacetonitrile (HAN) を中間体とする (a) → (b) 経路が正当なのか, p-hydroxyphenylhydroxymethylideneimine (HOX) を中間体とする (c) → (d) 経路が正当であるかについては, 決定的な証明は得られていない。従来, 植物界に見られる各種シアノ配糖体の生合成について, トレーサー研究から (a) → (b) 経路の優先性が主張されたにも拘らず, α-ヒドロキシオキシム中間体 [(c) → (d) 経路に対応する] の関与も同時に示唆されていた。上記二つの経路のいずれが, 生理的に正しいかを証明し, HAN などのニトリル中間体が, 他種のシアノ配糖体生合成にも一般的な中間体であることを提案することが本研究の目的である。 **方法;** ソルガムの種子を2日間, 暗黒下で発芽させ, シュートを 10mMメルカプトエタノール, 0.35M NaCl を含む 0.15Mリン酸緩衝液で磨砕し, 常法によりマイクロソーム標品を調製した。一晩透析後, 複合酵素標品として用いた。

結果; 本マイクロソーム標品は, NADPH と O_2 の存在下でチロシンを p-hydroxymandelonitrile (HMN) まで代謝し, 最終産物として p-hydroxybenzaldehyde (HBA) と HCN を生成する。従って, 中間体または基質の有効性は, HBA が HCN の生成量をもとに検討した。先ず HOX を合成し, OXM, HAN, HOX の基質有効性をみると, OXM → HAN → HOX の順であった。しかし, これだけでは HOX の中間体性を否定できず, 最終的には, 各チロシンを用い, 中間体の捕獲を含むトレーサー反応速度の解析を行った結果, OXM と HAN は標識されたが HOX は全然, 標識されなかった。同時に, 標識 HAN を分離後, 再結晶化の際, 比放射能の一定性を認め, 中間体は HAN であり, (a) → (b) 経路が Dhurrin 生合成にも正しいことを, 酵素系レベルで初めて立証することができた。更に, HAN を基質とした時, 水分子, HBA, と HCN が各1モル生成されることを (2RS)-HAN- 3H_2 を用いて明らかにした。