

2C-12

エンドウ種子発芽初期過程に出現するプロテアーゼについて

大塚博之 相菌泰生 下田思久 船津 勝

九大 農、生化

植物種子発芽初期に遊離アミノ酸が増加することは、すでに *Beever, Lawrence, Larson* 等によりいくつかの報告が見られる。讀者等はエンドウ種子を暗所26℃で発芽させることにより発芽初期に数種のアミノ酸の増加することを認め、特にグルタミン酸の増加が著しいことを見出した。植物種子の発芽に際しては、外部からの養分吸収がないことより、呼吸基質である糖および貯蔵タンパク質の水解が考えられる。そこで発芽初期の種子の代謝生理を明らかにする目的の一端として発芽種子中のプロテアーゼの変動について調べたので報告する。

エンドウ種子(品種うすい)を発芽させ発芽初期のプロテアーゼ活性をカゼインを基質として測定したところ、粗プロテアーゼにおいてその活性は、発芽後約30時間で最高に達しその後減少し、芽が出はじめ60時間以後より再び増加した。なおこの発芽時の蛋白質分解活性は少なくとも2種のプロテアーゼ、すなわちpH5.0で等電沈澱をするものと、上清に残るものが関係していることが明らかになった。

発芽種子中にすでに存在し、発芽約30時間で最高に達するものはpH5.0で等電沈澱するものでプロテアーゼ-Pと名づけ、発芽時に特有なものと考え、一方pH5.0で上清に残るものは60時間以後出現して来るものでこれをプロテアーゼ-Bと名づけた。この酵素は *de novo* 合成により生成されたものと考えられる。また発芽時の種子中のSH基の変動をDTNB法により測定したところ、全SH基は発芽後約1日で最高に達することが明らかになった。

そこで我々は種子中にすでに存在し、発芽約30時間で最高に達するプロテアーゼ-Pについて、2,3の酵素化学的検討を行なった。本酵素の等電点はpH約5.0で、作用の最適pHは7.0、最適温度は35~40℃で数種の二価金属、 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Hg^{2+} またE-ビスチン、DTT等のSH化合物で賦活化された。しかしPCMB, NEM等のSH試薬では阻害されなかつた。また本酵素は非常に不安定で取扱ひ中に活性の低下を来し、その原因は自己消化にあることが推察されたので、自己消化を抑える物質の検索を行なったところ Hg^{2+} およびE-ビスチン、DTT等が有効であることが明らかになった。

本酵素は塩に対してはかなり敏感で酵素反応系に最終濃度0.5M NaClを添加することにより活性が約70%低下した。プロテアーゼ-Pは硫酸塩析において30%飽和で塩析される画分と70~100%飽和で塩析される画分に分離されたが、この両画分のdoc電気泳動像、DEAEセルロース柱22ト溶出像はまったく一致し、同一タンパク質と考えられ、会合状態の違いにより硫酸塩析において異なる画分に塩析されたものと考えた。

