

2C-13

Pea stem第3節間細胞壁における多糖類の配向構造について—酵素処理による赤外線吸収スペクトルの変化による検討

林 隆造, 森川弘道, 谷 清廣, 千田 貢 (京大農・農化)

我々は従来よりニテラ, アベナ, アラスカエンドウの細胞壁を対象とし、偏光赤外分析法等を用いて壁高次構造解析を行ってきた。今回は精製酵素処理、すなわち *endo-polygalacturonase* (*endo-PG*), *endo-pectin lyase* (*endo-PL*) 及び *endo-xylanase* 処理を用いて、非セルロース性多糖類及びセルロースマイクロフィブリルの配向構造を検討し、これらの多糖類の配向構造と細胞壁の力学的性質、細胞伸長生長との関連について考察した結果について報告する。

材料としては黄化アラスカエンドウ第3節間表皮細胞壁を用いた。既報のようにプロナーゼ処理した赤外分析用フィルム試料を調製した。この壁試料の偏光赤外スペクトルにおいて、*ester C=O* 伸縮吸収 (1735 cm^{-1}) と COO^- 非対称伸縮吸収 (1605 cm^{-1}) は垂直二色性、*C-O-C* 非対称伸縮吸収 (1155 cm^{-1}) は平行二色性を示す。この試料を *endo-PG* (*Aspergillus japonicus*, 2 unit/ml, pH 4.5, 40°C , 0.05% bovine serum albumin を含む) で処理した後壁に吸着した bovine serum albumin を除くためプロナーゼ処理し、これを含めて *endo-PG* 処理とした。*endo-PL* (*A. japonicus*, 0.6 unit/ml) 処理もこれに準じた。*endo-PG* 処理により *total C=O* 伸縮吸収 (*ester C=O* 及び COOH , 1735 cm^{-1}) の吸光度は約55%減少し、多糖含量を反映する *C-O-C* 吸収は13%減少した。*endo-PL* 処理も同様な吸光度変化をもたらした。両酵素はペクチン画分のガラクチュロン酸残基を特異的に遊離するものと推定される。これらの酵素により可溶化される画分のウロン酸のエステル化度は、スペクトル的にどちらも20%程度と見積られた。これらの点より、両酵素により可溶化される多糖は高エステル化ブロックと低エステル化ブロックよりなるガラクチュロナンであると推定される。酵素処理に伴う配向変化を偏光赤外分析法により追跡した所 *total C=O* の減少と共に COO^- の二色性は急速に消失したが、*ester C=O* の二色性は残った。*C-O-C* の二色性の解析より可溶化された多糖分子鎖は伸長方向に平行に配向している事がわかった。また市販 *pectinase* (Sigma社, *A. niger*, 0.004%, pH 4.0, 35°C) 処理では *total C=O* の減少量は *endo-PG*, *endo-PL* 処理の場合と等しかったが、*C-O-C* はほぼ2倍 (25%) 減少した。これは市販 *pectinase* が中性多糖画分もかなり分解する事を示唆する。二色性に関しては、*total C=O* の減少に伴い、*ester C=O*, COO^- 共に消失した。また可溶化した多糖分子鎖は伸長方向に平行に配向している事がわかった。以上の結果は、本細胞壁において配向したガラクチュロナン及び中性多糖類が存在する事を示している。また、これらの配向構造は細胞壁の力学的延伸によりさらに強められる。これらの結果は、細胞伸長過程を制御すると考えられる細胞壁の力学的性質はセルロースマイクロフィブリルの配向構造に加えて、非セルロース性多糖類の配向構造によっても規定されているという考えを改めて支持する。

さらにヘミセルロース画分の配向構造を検討するため、*endo-xylanase* (*Streptomyces* sp. E-86, 0.01%, pH 5.7, 20時間) 処理を試みたが現在の所顕著なスペクトル変化は観察されていない。

これらの結果について、酵素抽出画分の化学分析の結果も合わせて報告する。