

論 説

花粉におけるデンプン—シュクロース転換反応

原 彰*・船隈 透*

The reactions of starch-sucrose conversion in pollen grains

Akira HARA* and Tooru FUNAGUMA*

1. はじめに

植物における糖の主な貯蔵形態はデンプンとシュクロースであり、糖代謝の中心はデンプン—シュクロースの相互転換にある。光合成によって生産された同化デンプンは、他の組織に転流される際にはシュクロースに形を変えるし、貯蔵器官においては送られてきたシュクロースはデンプンに再合成される。この過程の反応と酵素系について示したのが、図1である。

筆者らは花粉におけるデンプン—シュクロース転換反応に関与する酵素群について研究を進めようとしているが、本報では研究の動機、興味をもっての事柄、諸反応を触媒している酵素の性質等について、思いつくまま解説的にのべてみたい。

2. 花粉とデンプン

成熟の時期を別として、多くの花粉はデンプン粒を蓄積する。その含量はきわめて多様であり、多いものでは *Zea mays* のように 22% (乾物当) に達するが、ほとんど含まない植物種もある⁽²⁾。

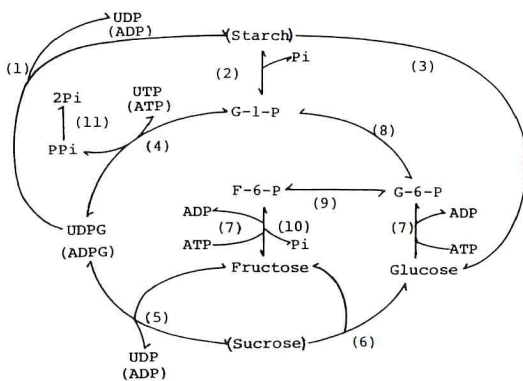


図1 デンプン—シュクロース転換の諸反応*

- (1) UDP (ADP) —グルコースデンプン合成酵素
- (2) デンプンホスホリラーゼ
- (3) アミラーゼ
- (4) UDP (ADP) —グルコースピロホスホリラーゼ
- (5) シュクロース合成酵素
- (6) インベルターゼ
- (7) ヘキソキナーゼ
- (8) ホスホグルコムターゼ
- (9) グルコースリン酸イソメラーゼ
- (10) ホスファターゼ
- (11) Mg²⁺-依存性無機ピロホスファターゼ

*C. M. Perez らの報告⁽¹⁾を改変した。

* 名城大学農学部生物化学教室 〒468 名古屋市天白区天白町八事裏山

* Faculty of Agriculture, Meijo University, Tenpaku-ku, Nagoya 468, Japan

これらのデンプンは花粉が成熟して発芽する過程で、図1に従って代謝される為に、花粉中のデンプン含量は大きく変化する。(注. デンプン含量の有無、消長については岩波の「花粉学大要」⁽³⁾に詳しい。) 渡辺は花粉が成熟するにつれてデンプン型から糖(化)型へ移行することを認め、デンプン型花粉は発芽しないか、発芽しても生長を停止することを報告⁽⁴⁾している。この事実はデンプン型花粉は糖代謝系酵素の活性発現が不十分であるために、発芽に際し必要なエネルギー源や細胞諸成分の原料としての糖を、得ることができない状態にあるからであると言える。

若しかすると糖代謝系の酵素の活性を指標として、花粉の生存能力(活力)をチェックできるかも知れないというのが、糖代謝系の酵素を調べようとする理由の1つである。

3. ガマ花粉の糖代謝関連酵素

個々の化学反応に関係する酵素が存在するかどうかだけを調べるには、少量の酵素液で実験できる。その場合でも、例えばリン酸エステルが代謝物である場合には、ホスファターゼの汚染は避けられないし、蛋白分解酵素などの影響も考えられるので、正確さを欠くことになる。しかし、目的とする酵素がどのような化学的、物理的性質をもっているか、あるいは調節的であるか否かを明らかにするには、少なくとも他の蛋白質や酵素の影響を受けない程度に分離精製する操作が必要である。

その意味では、容易にかつ多量に集めることの困難である花粉は、材料として不適當であるように思われるが、マツ、スギ、ソテツなどの裸子植物やガマなどの花粉は、1 kg 集めるのも不可能ではない。ライ麦花粉でさえ、筆者らの能力では30 g程度なら集めるのに困難ではない。筆者らが在住する愛知県では、ガマの群生を到る処で見うけることができるし、政府の奨励によるものか(?) 最近では稲田一面が、ガマ田に変じているのを見つけることができる。

幸にして、ガマ花粉の糖成分については、渡辺、

元村らによる詳細な分析があり^(5, 6)そのデータを見ると、デンプン、シュクロース、グルコース、フルクトースの含まれる割合は、デンプン—シュクロース転換反応を調べるのに好ましい材料に見えてくるから不思議である。

詳しい説明は省略するが、10 gのガマ花粉から抽出した粗酵素を硫酸分画して、DEAE—セルロースクロマトグラフィーを行ったのが図2である(注. この方法は収率の点で記載した酵素のすべてに有効である訳ではない)。

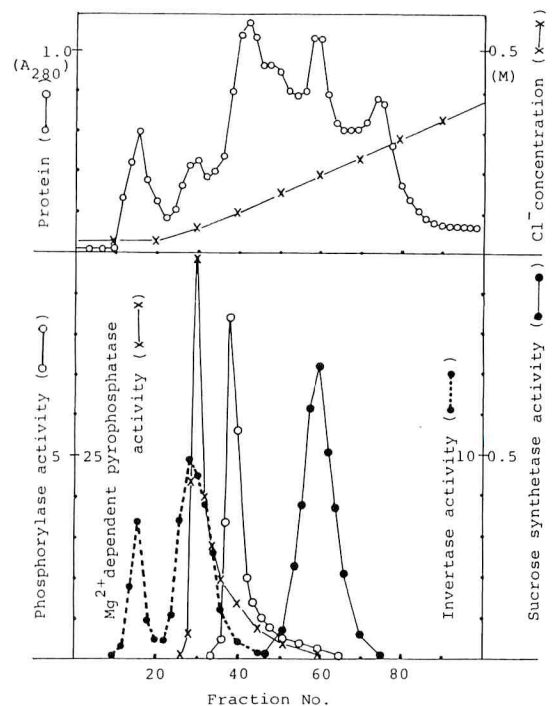
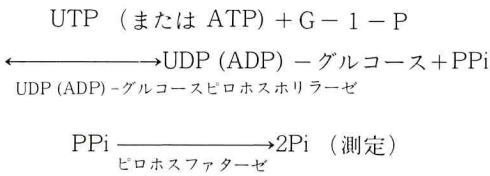


図2 ガマ花粉抽出液のDEAE—セルロースカラムクロマトグラフィー。

10 mM 塩化マグネシウムを含む10 mM トリス—塩酸緩衝液 (pH. 7.5) によって平衡化した DEAE—セルロースカラム (2 × 25 cm) に、抽出液 28 ml を通し、0 ~ 0.4 M の塩化ナトリウムの直線的濃度勾配によって溶出した。酵素活性はフラクション当たり (5 ml) の酵素単位で示した。

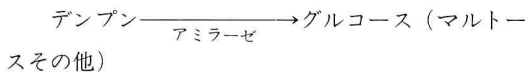
詳細については、後に報告する予定である。

この結果から、デンプンホスホリラーゼ、シュクロース合成酵素、インペルターゼおよび Mg^{2+} -依存性ピロホスファターゼの存在が明らかであり、材料として使えそうである。デンプン-シュクロース転換反応で、もう1つ重要な酵素としてUDP（またはADP）-グルコースピロホスホリラーゼがあるが、通常の測定法では試薬が高価で方法が複雑であるので、花粉中に強い活性を示す Mg^{2+} -依存性ピロホスファターゼをカップリングさせて測定する方法を検討中である。



4. デンプンの分解反応はホスホリラーゼ依存か、アミラーゼ依存か

植物においてデンプンの分解は、アミラーゼまたはホスホリラーゼによって行われる。



$$\begin{array}{c}
 \text{デンプン (グルコース } n) + \text{Pi} \xleftarrow{\text{ホスホリラーゼ}} \\
 \text{デンプン (グルコース } n-1) + \text{G-1-P}
 \end{array}$$

加水分解の自由エネルギー変化から、アミラーゼによる反応は不可逆的である（注、矢印は右方向へのみ示してある）が、ホスホリラーゼによる反応は可逆的である。図2では、ホスホリラーゼ活性は、合成反応（注、左方向への反応）によって生じた無機リン酸を測定して示した。

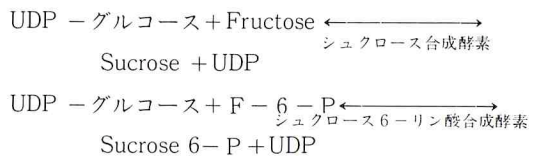
ライ麦とガマ花粉に関する限り、アミラーゼ活性は非常に弱いのでデンプン分解はホスホリラーゼに依存しているものと考えられる。他の花粉ではどうであろうか。

動物組織のグリコーゲンホスホリラーゼは、きわめて複雑な制御を受けた（調節）酵素として存在している（注、生体内では分解反応のみを触媒し、合

成酵素は別に存在する）が、植物についてはそのような機構はほとんど明らかにされていないし、合成反応への関与も否定されていない。花粉においてホスホリラーゼがデンプンの代謝にどのような関わりを持っているか、またその反応が如何なる調節を受けているか興味をもたれる。

5. シュクロース合成酵素の真の役割は何か

植物におけるシュクロースの合成に関しては次のように



シュクロース合成酵素とシュクロース6-リン酸合成酵素の2種類が知られている。前者による反応は可逆的であるのに対し、後者による反応は、生じたシュクロース6-リン酸がホスファターゼの作用を受けると、左方向への反応が不可能になるので、大量のシュクロース生産には都合がよい。

シュクロース合成酵素は、合成よりもむしろ分解に関与しているという知見⁽⁷⁾があるが、花粉においてもそれが適用されるとすれば、ほとんどの花粉に含まれる強力なインペルターゼとの関わりを説明できねばならない。ガマ花粉においてはシュクロース合成酵素の活性がシュクロース6-リン酸合成酵素の活性よりも強い。また、中村の報告⁽⁸⁾も同様の結果を示している。このような結果からは、花粉ではシュクロース合成酵素がシュクロース合成の主役と考えられなくもない。結論は、もっと多種類の花粉についてのデータが必要であるし、酵素を分離して反応速度論的に作用機作を詳細に検討する必要がある。

以上4、5の文を書くに際し、松本の「植物の糖代謝」⁽⁹⁾を参考にした。

6. Mg^{2+} -依存性ピロホスファターゼの役割

筆者らの調べた限り、 Mg^{2+} -依存性ピロホスファターゼはほとんどの花粉において強い活性を示す。

この酵素の役割は多くの生合成反応の副産物として生産されるピロリン酸を分解し、生合成反応を促進させることにある。⁽¹⁰⁾以前、筆者らがソテツ花粉のこの酵素について報告⁽¹¹⁾した際には、花粉における存在意義を確信していた訳ではなかった。

本報告をまとめようと、糖代謝を点検してみると、花粉のピロホスファターゼはデンブンやシュクロース、あるいは花粉管壁糖成分等の前駆体となるUDP (またはADP) —グルコースが合成される際に生ずるピロリン酸の掃除人としての役割が主な仕事であると推定するに至った。従って、UDP —グルコースピロホスホラーゼ活性測定に、このピロホスファターゼをカップリングさせ、無機リンを定量する方法は、生体内での反応を再現させた理になかった方法であると考えているが、果してうまくいくかどうか。

7. 終わりに

筆者(原)が、最初に取り扱った花粉はソテツの花粉であった。花粉から酵素を取り出すには先ず、破壊する必要があったので、研究室にあった種々の器具を用いて努力したが、一向に埒が明かなかった。

これも花粉の外殻の固さに対する無知によるものであったが、花粉を食塩溶液だけでなく、希薄なアルカリ緩衝液に浸すだけで、リボヌクレアーゼ、ホスファターゼ、プロテアーゼなどの表在性酵素が瞬間的に溶出してきた^(12, 13)のには、花粉の固さに対する認識をはるかに越えた驚きであった(注、すべての花粉についてこの操作が適用できる訳ではない)。

その後の筆者らの報告は、誠に恥ずかしい限りであるが、まとまりのないものであった。「生きている花粉」を追求していくには、花粉の成熟過程、受粉から受精に至り、種子を形成させることに関する深い知識が必要であると痛感している。11月に開催された日本花粉学会にしても、第5回の国際花粉学会議のトピックス(注、日本花粉学会誌 No.23 参照)にしても、そのような意味で勉強させてもらえるような講演が少ないように思える。

このような拙文を取って書いたのは、筆者らのような花粉の素人に対し、識者の方々からの種々のアドバイスがいただけることを期待しての事であります。宜しく御教示下さい。

本報告を幾瀬マサ教授定年退職記念号に寄す。

参 考 文 献

- (1) Perez, C. M., A. A. Perdon, A. P. Resurreccion, R. M. Villareal and B. O. Juliano: Enzymes of carbohydrate metabolism in the developing rice grain. *Plant Physiol.*, **56** : 579 (1975)
- (2) Todd, F. E. and O. Bretherick: The composition of pollens. *J. Econ. Entomol.*, **35** : 312-315 (1942)
- (3) 岩波洋造 花粉学大要, 風間書房, p. 38-42(1971)
- (4) 渡辺光太郎 イネ科花粉の発芽における柱頭反応の役割, 京都家政短大紀要, 第13集, 26-41(1974)
- (5) Watanabe, T., Y. Motomura and K. Aso: Studies on honey and pollen III. On the sugar composition in the pollen of *Typha latifolia* Linne'. *Tohoku J. Agr. Research*, **12** : 173-178 (1961)
- (6) Motomura, Y., T. Watanabe and K. Aso: Studies on honey and Pollen VI. On the sugar composition of several kinds of pollen. *Tohoku J. Agr. Research*, **13**: 237-244(1962)
- (7) Murata, T. Regulatory properties of sucrose synthetase in sweet potato roots. *Agr. Biol. Chem.*, **35**: 297-299(1971)
- (8) Nakamura, N. Physiological studies on the pollen growth of *Camellia japonica* L. in vitro. *J. Yokohama City Univ. Biol. Ser.*, **5**. 73-100 (1978)

- (9) 松本英昭 植物の糖代謝, 蛋白質核酸酵素, 第24巻3号, 278-291(1979)
- (10) Kornberg, A. *Horizons in Biochemistry*, Academic Press, Inc., New York. p. 251(1962)
- (11) 原 彰・船隈 透 ソテツ花粉の Mg^{2+} 依在性無機ピロホスファターゼについて, 日本花粉学会誌, 第21号, 1-7(1978)
- (12) 原 彰・吉原和子・渡部常樹 ソテツの核酸分解酵素について(第3報) ソテツ花粉から塩溶液によって溶出されるリボヌクレアーゼ, ホスホモノエステラーゼについて, 日本農芸化学会誌, 第44巻, 385-392(1970)
- (13) 原 彰・松ヶ野一郷・小林 昭 Protease associated with the cell surface of cycad pollen. 日本花粉学会誌, 第15号, 41-44(1975)

☆ 新著紹介 光井・小林・中村：アレルギークリニック

岩手医科大学教授 光井庄太郎・群馬大学教授 小林節雄・大分大学教授 中村 晋編集により、41名の専門家が執筆している大著である。特に花粉・胞子についてはII総論 4抗原の部で国立相模原病院アレルギー研究部の信太隆夫・清水章治が花粉概論(47-51ページ、3図)、静岡大学名誉教授の上野実朗が花粉図譜・図解(52-69ページ、17図)、群馬大学助教授の笹木隆三が栽培植物の花粉胞子(テンサイ・イチゴ・除虫菊・シイタケ・ヒカゲノカズラ等、73-77ページ、6図)を書いている。医師・研究者向きの専門書である。B5版上製函入 686ページ 定価32,000円 発行所 東京都文京区湯島2-31-14 金原出版KK(上野実朗)。

☆ 新著紹介 花粉百話—楽しい入門書— 上野実朗著

(風間書房・B6版・216頁・定価950円)

著者の上野実朗博士は、花粉に関する各方面にわたっての深いご研究をなされ、かつてフランスに留学された際は花粉の世界における第一人者であるバン・カンポ博士のご指導で裸子植物の花粉について本格的に研究された。先生の花粉に対するご研究は、すでに40数年にわたって幅広く熱心につづけられている。

1979年6月発刊された「花粉百話」は楽しい入門書としてあるように、花粉に関する専門の話題を100話選ばれ、これを誰にでもわかるように1話・1話ごとに興味深く、しかも楽しく読めるように書かれている。従って花粉に関心のある方は勿論のこと、興味のない方にも大変ユニークな内容の本書により、花粉について今まで知らなかった部分の智識も得ることができると思う。ここに新刊紹介と共に多くの方々のご一読をお勧めする。

〒101 東京都千代田区神田神保町1-34

振替東京1-1853 風間書房

(幾瀬マサ)

☆ 記念事業について

日本花粉学会会誌 24 号を幾瀬マサ博士定年記念号として出版できたのは、大方の会員諸氏の御協力の賜として深謝している。これは学会としても幸福なことである。学会も創立以来 15 年になり、古い会員の中には定年、還暦、古稀などを迎えながら、益々研究に指導に活躍されている方が居られると思う。例えば東京花粉研究会を主宰しておられる最初からの会員・石田 肇氏は明治 41(1908)年 10 月 8 日の生れであるが、定年や古稀を過ぎて現在も健闘しておられる。またこれ以外にも何名かの会員をすぐに思い出す。そこで何等かの形で表彰・記念したらいかかかと思うので会員諸氏の御意見を伺いたい。幹事会にはかつて適当なプランを考えたいので宜しく御願います(上野)。

☆ 玉川大学農学部昆虫学研究室の「ミツバチ」の出版について

下記の書面が学会あてに参りましたのでお知らせします。どうぞ御利用下さい。

皆様にはお褒りなく御活躍のことと拝察致しております。さて、先年来畜産昆虫学関係の二教授と共著の形で、教科書「畜産昆虫学」を文永堂より出版することにしておりましたが、諸事情により遅れております。そのため、私共の執筆いたしましたミツバチの章(B5版、80ページ)を別刷のかたちでとりあえず限定出版致しました。手前みそではありますが、別記のように広くミツバチ全般にわたり新鮮味のある内容と自負しております。ぜひ皆様におすすめ頂ければ幸いに存じます。

なお上記の理由から分譲は当研究室で扱うことになりましたので送料共で1,000円をお送り頂ければ早速発送申し上げます。また銀行振込み(横浜銀行 口座番号:総合口座 50853、町田市店 岡田一次)を利用して頂いても結構です。

暑さ厳しい折から御自愛下さい。

記

「ミツバチ」(畜産昆虫学第Ⅲ章)

1. ミツバチの種類と形態
2. ミツバチの生理・生態
3. ミツバチの害敵と病気
4. 養蜂技術と蜜源植物
5. ミツバチの生産物
6. これからの養蜂産業

1979年8月

〒194 町田市玉川学園6-1

玉川大学農学部

昆虫学研究室