

流動応力下再生植物プロトプラストの β グルカン生成

関屋大輔*, 飯野正昭*

* 千葉工業大学生命環境科学科 [〒275-0016 千葉県習志野市津田沼 2-17-1]

1. 緒言

植物細胞には硬いセルロース (β 1, 4 グルカン) 主体の細胞壁があるが、細胞壁を除去したプロトプラストを再生させる過程で物理ストレスに曝露された細胞から生成された再生細胞壁はレオロジー特性が変化することなどが報告されている¹⁾。細胞壁は一種の物理ゲルと見なせるので、その物性変化は多糖再生量、分子の配向性や構成比率変化などが推定された¹⁾。一方、キノコ類が産生する柔らかい β グルカン (β 1, 3 グルカン) には、免疫力向上や動脈硬化および血栓の予防に役立つとされる²⁻⁴⁾が、多くの植物では含有量が少なく、また、キノコでも量が少なく高価となっている。

本研究では、通常、セルロースを産生する植物細胞が、流動応力下で β グルカンを多く産生する可能性を調べた。

2. 実験方法

未分化ニチニチソウ培養細胞を高張液下で原形質分離させ、その後 Cellulase "Onozuka" と Macerozyme によるセルラーゼ酵素液を用いてプロトプラストに調整した。このプロトプラストをインキュベータ内に設置した回転シェーカーを用いて暗条件 27°C にて 24 時間培養した。応力は、平均流速/平均深さにより見積もった。

細胞壁構成多糖の成分分析の方法として、単糖に分解して構成比から推定する手法では、結合様式の違いが不明である。多糖かつ単鎖のままでも精製されていれば、多次元 NMR により構造解析が可能であるが、細胞壁では多くの多糖を含むうえ、単鎖でなく分岐していることが多く、このような場合、この方法は非現実的である。本研究では細胞壁を酵素で分解し、¹H-NMR による分析法⁵⁾を用いて再生細胞壁の多糖分子の比率を求め、比較した。

3. 実験結果

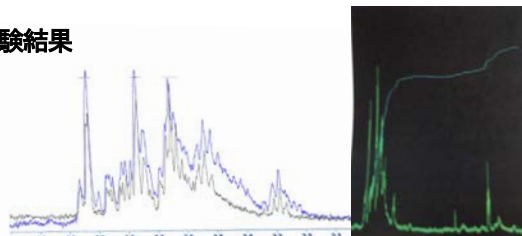


図1 NMR スペクトル (左) と積分スペクトル (右)

再生細胞を重水で複数回洗浄し、軽水を重水に置換し、セルラーゼ酵素液で分解し、NMR スペクトルを得た (図 1)。多糖の種類を変数 i とし、細胞壁に含まれる多糖分子の量を y_i とし、再生細胞壁分解溶液の各

NMR スペクトルの積分値を x_j としたとき、多糖分子試薬 i の標準料の分解産物が示す各 NMR スペクトル j の積分値を a_{ij} とし、 a の逆行列 a^{-1} を利用して、 $y = a^{-1}x$ から多糖分子の量を求めた。

20 s^{-1} 以上において、セルロースと β グルカンの再生量が増加し、特に 40 s^{-1} 以上での β グルカンは著しく増加しセルロース量を上回った。

0 s^{-1} にて細胞壁構成多糖比率は、90% 以上がセルロースであったが、流動応力が大きくなるにつれて β 1, 3-glucan が増え、60 s^{-1} では、セルロースは 35% 程度に減った。

4. 考察

流動応力による細胞壁構成 β グルカンの増加が確認された。一方、いくつかの植物ホルモンが、 β グルカンの増加を引き起こすことが確認されている⁵⁾ ので、この結果が、メカノレセプターによる β グルカン合成酵素への直接効果であるのか、ホルモン産生を経た間接効果であるのかは、今後調べる課題である。ホルモンを使用する場合、細胞の分化未分化の程度が変わる欠点がある。

動脈硬化および血栓の予防に効果が期待される β グルカンを安価に大量生産できる可能性が示唆された。

5. 結言

流動応力による細胞壁を構成する β グルカンが増加することが確認された。

文 献

- 1) Fujimura, Y, Iino, M and Watanabe, U: Area expansivity moduli of regenerating plant protoplast cell walls exposed to shear flows. *Jpn. J. Appl. Phys.* **44** (5A), 3325-3329, 2005.
- 2) Berecochea - Lopez, Arlet et al.: Fungal Chitin-Glucan from *Aspergillus niger* Efficiently Reduces Aortic Fatty Streak Accumulation in the High-Fat Fed Hamster, an Animal Model of Nutritionally Induced Atherosclerosis. *J. Agric. Food Chem.* **57**(3), 1093-1098, 2009.
- 3) Kim, Yea - Woon et al.: Anti-diabetic activity of β -glucans and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Agaricus blazei*. *Biotechnol. Lett.* **27**(7), 483-487, 2005.
- 4) Delaney, B et al.: β -Glucan Fractions from Barley and Oats Are Similarly Antiatherogenic in Hypercholesterolemic Syrian Golden Hamsters. *J. Nutr.* **133**(2), 468-475, 2003.
- 5) 関屋大輔, 内金崎大己, 飯野 正昭: プロトプラストの再生細胞壁多糖構成の¹H-NMRによる分析。第 54 回 NMR 討論会講演要旨集 200-201, 2015