

ガマおよびマツ花粉デンプン粒の調製

岩田 岳・船隈 透・原 彰

Preparation of Starch Granule from *Typha latifolia* L.
and *Pinus thunbergii* P.

Takeshi IWATA, Tooru FUNAGUMA and Akira HARA

Laboratory of Biological Chemistry, Faculty of Agriculture,
Meijo University, Tenpaku-ku, Nagoya, 468

緒 言

デンプン粒の性質は植物の起源によって異なり、また植物の生育環境や組織によっても違ってくる。我々は、ガマおよびマツの花粉デンプン粒とホスホリラーゼとの関係を調べるために、デンプン粒の調製方法を検討した。

両花粉についてデンプン粒の存在を比較すると、ガマでは、花粉は葯から飛散する以前にデンプン粒を貯蔵しているのに対し、マツ花粉は受粉後、花粉管の伸長に伴い合成されていくという違いがある。従って、マツ花粉からデンプン粒を調製する場合、あらかじめ寒天上で培養しなければならなかった。花粉はいずれも県内で採取して、一夜風乾した後、シリカゲルを同封して -20°C で凍結していたものを使用した。

マツ花粉の培養は直径20cmのシャーレに3%寒天、3%シュクロース、50ppmナイスタチンおよび50ppmクロラムフェニコールを含む培地200mlをつくり、それに花粉500mgを全体にまき 30°C で3日間行なった。この間、花粉管は伸長し、デンプン粒が管内に充満した。

デンプン粒の調製方法は以下の通りに行なった。花粉(ガマ花粉、培養マツ花粉)に0.5Mシュクロースを含む1%シュウ酸アンモニウム水溶液を加えて10%懸濁液を作り、氷冷下において10分間テフロンガラス

ホモジナイザーで処理して遠心分離(20,000×g, 10min, 4°C)を行なった。シュウ酸アンモニウム水溶液は酵素によるデンプン粒の分解を抑えるために加えた。沈殿を0.5Mシュクロース水溶液に懸濁させて低速遠心分離(19×g, 5min)を行ない、白色の上層を集めた。下層には0.5Mシュクロース液を再び加えて懸濁した後、同条件下で低速遠心分離を行なって上層を集めた。この操作は5回繰り返した。

白色の上層をまとめて遠心分離(1,250×g, 10min)を行ない、得られた沈殿を0.5Mシュクロース水溶液に懸濁させ、再び同条件で遠心分離を行なった。この洗浄操作は数回行ない、得られた沈殿を粗デンプン粒とした。次に汚染している脂質を除去するために、粗デンプン粒を3倍容の85%メタノールに懸濁させ、2時間湯浴上で還流煮沸した後、遠心分離(1,250×g, 5min)を行なった。この操作をさらに2回行なった。

沈殿は多量の0.1M食塩水に懸濁して $1/6$ 容のトルエンを加えて一夜攪拌した後、静置し、変性したタンパク質を含む上層を取り除き、遠心分離(1,250×g, 10min)を行なった。タンパク質の除去には0.2-0.3% NaOH水溶液で攪拌、抽出を繰り返す方法があるが、デンプン粒が分解する恐れがあるのでこの方法はさけた。次に純水で数回洗浄し、アセトンで脱水して乾燥した後、デシケーター内で保存した。

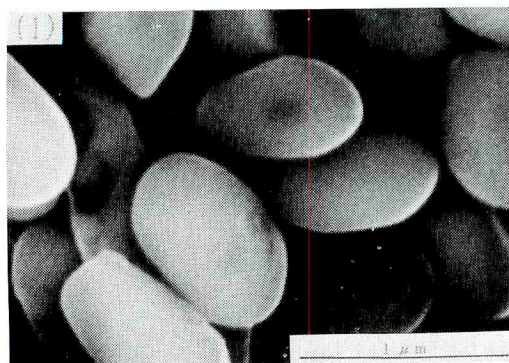


Photo 1 ガマ花粉デンプン粒
(JEOL EM 100 CX-ASID 4 D, $\times 20,000$)

花粉から調製したデンプン粒の収率はガマ花粉が6.7%、マツ花粉が11.5%であった。Todd 等の報告⁽¹⁾によればガマ花粉のデンプン含有率は13%であるから花粉中の約50%のデンプンを回収したことになる。

精製デンプン粒は真空蒸着装置 (JEOL ION SPUTTER JFC-1100) によって金 (Au) を薄く蒸着し、加速電圧19-60KV で走査型電子顕微鏡による観察を行なった。電子顕微鏡 (SEM) には日本電子製の JEOL EM 100 CX-ASID 4 D と JSM-T 20 の二機種を使用した。倍率5,000以上では前

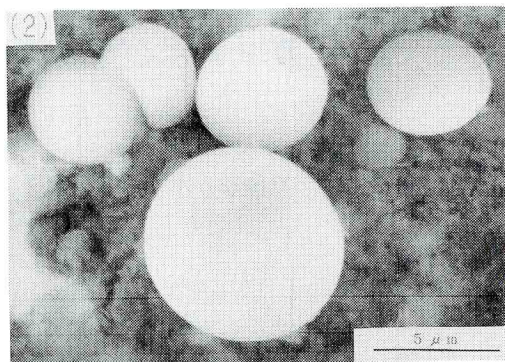


Photo 2 マツ花粉デンプン粒
(JEOL JSM-T20, $\times 10,000$)

者を、それ以下では後者を用いて観察した。その結果、形態を比較するとガマ花粉のデンプン粒は長径 $1.5\mu\text{m}$ のだ円体で形が揃っているのに対し、マツ花粉のデンプン粒は、大きさが径 $2-8\mu\text{m}$ とばらつきがあった。また球体やだ円体のものが多いが、不定形のものもあり、不揃いであった (Photos 1, 2)。

ガマ花粉には2種類のアミラーゼが存在するが、これらは花粉の調製デンプンに対して異なった挙動を示すことが分かっており、デンプンその他の性状も含め、次回に報告する予定である。

引用文献

- 1) Todd, F. E. and O. Bretherick: The composition of pollens. J. Econ. Entomol., **35**: 312-315 (1942)

(受理日 1986年10月6日)