



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	秋のポプラにおけるグリセロール代謝
Author(s)	吉田, 静夫; YOSHIDA, Shizuo
Citation	低温科学. 生物篇, 29, 47-52
Issue Date	1972-02-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17782
Type	departmental bulletin paper
File Information	29_p47-52.pdf



秋のポプラにおけるグリセロール代謝*

吉田 静夫

(低温科学研究所)

〔昭和46年10月受理〕

I. 緒 言

まえの実験¹⁾で、開葉期のポプラの枝は与えられたグリセロール-1-¹⁴Cを代謝し、脂質をはじめアミノ酸、糖とそのリン酸エステルおよび不溶性残渣へと活発に¹⁴Cをとりこむことが明らかとなった。

この実験では、脂質の合成と蓄積が活発に進行すると予想される秋の生長停止期のポプラについて、前報¹⁾と同じ方法でグリセロール-1-¹⁴Cを枝に与え一定時間インキュベートした後、いろいろな画分への¹⁴Cのとりこみを検討し、生長停止期と開葉期のグリセロール代謝の特徴を明らかにしようとするものである。

本文では次の略号を用いた。PA, ホスファチジン酸; PG, ホスファチジルグリセロール; PE, ホスファチジルエタノールアミン; PC, ホスファチジルコリン; PI, ホスファチジルイノシトール; MGD, モノガラクトシルジグリセライド; DGD, ジガラクトシルジグリセライド; TG, トリグリセライド; DG, ジグリセライド; MG, モノグリセライド。

II. 材料と方法

材料: 圃場に植えられているポプラ (*Populus gelrica*) の枝を主として使用した。この実験に使用したポプラは、8月24日頃に生長を停止し冬芽の形成を始めた。9月末頃まで葉の色は緑色を保ったが、10月初旬から落葉が始まり、10月末には殆んど葉は黄葉ないしは落葉した。対照実験のため、1月26日に鉢植えにして戸外から室内に入れて開芽させたものを使用した。グリセロール-1-¹⁴Cは第一化学薬品株式会社から購入したもので、その比放射能が10 mCi/mMとなるように調製した。

方法: グリセロール-1-¹⁴C 10 μ l (2 μ Ci 相当) を前報¹⁾ のようにして枝に与え 20°C で一定時間反応させた。使用した枝の大きさはおよそ直径 0.6 cm, 長さ 5 cm であった。枝についている芽は実験前に取除いた。脂質の抽出ならびに水溶性画分の分画の方法は前報¹⁾ の通りである。糖画分のラジオペーパークロマトグラフィーはつぎのようにして行なった。糖画分の一定量を Whatman No. 1 の濾紙にスポットして、*n*-ブタノール・醋酸・水 (40:10:20, v/v) で下降法で展開した。展開後、濾紙を 1 cm 間隔に切って窓なしガスフローカウンターで放射能を測定するか、または、ラジオペーパークロマトグラフ装置で測定した。

* 北海道大学低温科学研究所業績 第 1164 号

脂質の分画は Mallinckrodt の硅酸カラムクロマトグラフィーで行なった。前報¹⁾で使用した Merck の硅酸では PE, PG および PC の分離が不充分であることが明らかになったためである。カラムの大きさは 1×10 cm で、 100°C で活性化した硅酸 2 g を石油エーテルに懸濁してカラムに注加した。第 2 表に示すように、石油エーテルの中のエーテルの濃度をあげながら中性脂質を分画したあと、アセトンにより糖脂質画分を溶出し、ついでクロロホルム・メタノール (1:1, v/v) およびメタノールでリン脂質を溶出した。リン脂質は再び新しく作った硅酸カラムでクロロホルム中のメタノール濃度を上げながら各成分に分画した。

脂質中の ^{14}C の分布を知るため、Ferrari and Benson らの方法²⁾によりメタノリシスを行ない、脂肪酸メチルエステル画分と水溶性画分を得、その各々について放射能を測定した。リン脂質から得られる水溶性画分については、リン酸エステルおよびコリンへの ^{14}C の移行について検討した。

III. 結 果

1. 脂質ならびに水溶性各画分への ^{14}C のとりこみ

第 1 表に示すように、各画分への ^{14}C のとりこみは生長停止後落葉するまでの間に大きく変化する。脂質へのとりこみは、8月24日から9月16日にかけて一時増加するが、落葉が開始される10月2日には急激に低下する。この傾向は皮および材においてほぼ同様に認められる。完全に落葉する10月28日にはさらに低下して、22.5時間反応させても10月2日時点で3.5時間反応させたのとほぼ同程度のとりこみしかみられない。真冬には脂質へのとりこみが全く無いと言ってよい。したがって、事実上、落葉する10月末においてグリセロール- ^{14}C の脂質へのとりこみは停止すると考えられる。

アミノ酸およびリン酸エステル両画分へのとりこみは、全般的にみて春の開葉期に比べて低いように思われる。両画分とも落葉期に向ってとりこみが減少するが、アミノ酸画分へのとりこみの方がややおくれで低下する。

不溶性残渣へのとりこみは、8月24日以降急激に低下し、 ^{14}C 化合物の吸着を考慮すれば事実上10月28日時点でとりこみが停止している。

糖画分を Whatman No. 1 の濾紙で *n*-ブタノール・醋酸・水 (40:10:20, v/v) で下降法に

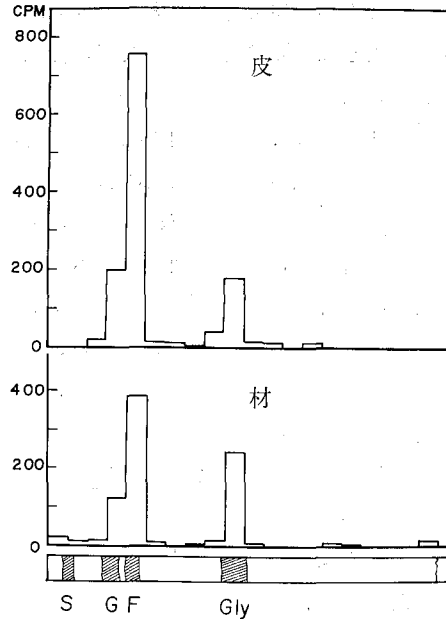
第 1 表 秋のポプラにおけるグリセロール- ^{14}C のとりこみ (cpm $\times 10^{-3}$)

実験期日	反 応 間 時 (時間)	脂 質		アミノ酸		リン 酸 エ ス テ ル		糖		不溶性残渣		備 考
		皮	材	皮	材	皮	材	皮	材	皮	材	
8月24日	3.5	119.5	115.8	13.0	26.7	44.2	63.2	44.0	322.9	46.6	81.3	冬芽の形成開始
9月16日	3.5	206.5	157.5	29.2	40.0	25.4	13.5	238.6	639.1	6.4	8.4	剥皮困難 (形成層活動停止)
10月2日	3.5	74.4	81.8	28.8	53.4	10.1	12.2	360.0	961.6	4.5	5.6	下葉より黄葉・落葉開始
10月28日	3.5	13.6	17.9	4.4	5.2	3.5	3.4	467.3	657.8	0.8	1.3	9分通り落葉
	22.5	74.7	47.2	8.2	5.0	4.3	4.5	461.5	545.3	4.0	2.6	
1月9日	3.5	3.4	9.0	—	—	—	—	—	—	0.2	0.6	越冬中

より展開し、ラジオペーパークロマトグラフィーを行なった。その結果、生長停止期のポプラの糖画分の放射能はグリセロール中に見出され、蔗糖、グルコースおよびフラクトース中にはほとんど放射能が検出されなかった。このことは開葉期のポプラと著しく異なる点である。第1図に示すように、開葉期のポプラではグリセロール- $1-^{14}C$ からグルコースおよびフラクトースへのとりこみが極めて活発である。

2. 珪酸カラムによる脂質の分画

各脂質画分へのとりこみを全脂質に対する百分率で表わしたのが第2表である。TG, DG および MG については薄層クロマトグラムの位置からはほぼ同定できた。クロロホルム中のメタノール濃度が15~20%で溶出される画分は薄層クロマトグラムでPGと思われる位置に放射能が検出され、PEに相当する位置には比較的少ない放射能しか検出されなかった。クロロホルム中のメタノール濃度が50~100%で溶出される画分は、薄層クロマトグラムでPCの位置に大部分の放射能が



第1図 春の開葉期における糖画分のラジオペーパークロマトグラム

材料：5月中旬のポプラ。反応条件：20°Cで3.5時間反応。S, G, F および Gly はそれぞれ蔗糖、グルコース、フラクトースおよびグリセロールを表わす

第2表 珪酸カラムによる脂質の分画と各画分へのとりこみ率 (%)

実験期日	脂質画分	石油エーテル中のエーテルの量			アセトン	クロロホルム中のメタノールの濃度		
		10%	50%	100%		2-5%	15-20%	50-100%
		TG	DG	MG	MGD・DGD	PA	PG・PE	PC・PI
8月24日	皮	8.2	15.8	3.3	3.2	3.8	15.8	55.1
	材	10.6	26.0	3.6	5.4	1.6	17.2	35.4
9月16日	皮	8.6	22.8	7.6	6.7	0.6	16.0	42.3
	材	14.4	10.5	2.1	3.8	1.2	17.8	52.6
10月2日	皮	10.1	9.7	3.8	11.4	1.7	25.1	37.5
	材	12.8	14.0	4.3	6.6	1.7	34.3	41.9
	皮*	18.1	5.8	2.5	5.9	0.8	29.1	37.4
10月28日	皮*	15.4	18.2	1.8	11.5	0.7	26.7	25.2
	材	10.5	9.0	0.7	3.5	—	41.5	14.5
開葉直前	皮	11.9	10.1	—	5.5	—	42.6	28.6
	材	10.5	9.0	0.7	3.5	—	41.5	14.5
開葉期 (芽 3~5 mm 伸長)	皮	15.8	9.5	0.8	7.6	0.7	35.4	30.2
	材	15.1	31.0	1.7	4.8	1.8	27.4	17.7

* 22.5時間反応させた。他はすべて3.5時間反応させた

検出されるが無視できない程度の放射能が PI と思われる位置に検出される。アセトンで溶出される画分は MGD や DGD などの糖脂質から成るものと考えられるが今のところくわしく検討していない。

冬芽形成直後と落葉期では、皮、材においてリン脂質へのとりこみに差がみられる。すなわち、冬芽形成の直後には皮において PC・PI 画分へのとりこみが大きい、落葉期に向って次第に減少し、逆に PG・PE 画分へのとりこみが増加する。一方、材では PC・PI 画分へのとりこみが落葉直前まで増加したのち、落葉とともに著しく減少する。PG・PE 画分へのとりこみは皮の場合と同様に落葉期に増加する。一方、開葉期のポプラでは、はじめ PG・PE 画分への著しいとりこみがみられるが、開葉とともに中性脂質 (TG および DG) へのとりこみが増して PG・PE 画分へのとりこみは急激に減少する。このように、秋と春のポプラではリン脂質の代謝に可成りの差のあることが認められる。

TG へのとりこみは、開葉の初期において皮、材ともにやや高く、冬芽形成期では比較的低い。しかし、落葉期には TG へのとりこみが徐々に増加する傾向がみられる。一方、DG へのとりこみは材において最も大きく変動し、開芽期には著しく高い。しかし、この状態は冬芽形成期まで保持されるようであるが、落葉期には著しく減少する。

脂質中の ^{14}C の分布について検討した結果を第 3 表および第 4 表に示す。DG 以外の画分では ^{14}C の 90% 以上は水層に分布し、脂肪酸および不ケン化物への分布は少ない。また、リン脂質画分の水層について、塩酸で加水分解すると PG・PE 画分も PC・PI 画分ともにリン酸エステル画分に ^{14}C が分布している。PC・PI 画分の場合、コリン画分への ^{14}C の分布は極めて少ない。しかし、PG・PE 画分の場合、リン酸エステル画分と非リン酸エステル画分にほぼ

第 3 表 各脂質画分のメタノーリシス後の放射能分布

実験期日	脂質画分	PG・PE		TG		DG	
		皮+材 (%)	皮+材 (%)	皮 (%)	材 (%)	皮 (%)	材 (%)
8月24日	エーテル層	6	8.0	9.7	3.5	17.1	3.6
	水層	97.4	92.0	90.3	97.5	82.9	97.4
9月16日	エーテル層	6.1	3.3	2.4	9.3	15.4	3.5
	水層	93.9	96.7	97.6	90.7	84.6	96.5
10月2日	エーテル層	2.8	8.6				
	水層	97.2	91.4				

第 4 表 メタノーリシス後の水層における放射能分布

実験期日	PG・PE 画分		PC・PI 画分		
	リン酸エステル (%)	非エステル (%)	リン酸エステル (%)	非エステル (%)	コリン (%)
8月24日	50.0	50.0	85.6	14.3	0
9月16日	38.6	61.3	90.3	8.6	0.9
10月2日	50.3	49.7	88.7	9.9	1.3

等量の ^{14}C が分布している。

IV. 考 察

この実験は、ポプラが活発に生長している状態から生長休止状態への移行過程におけるグリセロールの代謝を、グリセロール- $1-^{14}\text{C}$ のとりこみの面から検討した。

開葉期と生長休止期のグリセロール代謝における大きな違いは、アミノ酸、リン酸エステルおよび糖画分へのとりこみにおいてみられる。すなわち、前者では上記各画分へのとりこみが活発であるが後者では不活発である。ことに、糖画分では開葉期にグルコースやフラクトースなどへの活発なとりこみがみられ、開葉の進行につれてグリセロール中に回収される放射能は減少してゆく。これに対して、生長休止期には糖画分の放射能の殆んどすべてがグリセロールに回収される。冬と開葉期のポプラの材の抽出液についてグリセロールキナーゼ活性を測定したところ、抽出液あたりの活性は冬の材は開葉期の材の約 1/16 程度であった³⁾。したがって、グリセロールの解糖系への代謝が生長休止期において不活発である理由のひとつとして、グリセロールキナーゼ活性が低下することが考えられる。しかし、この他に α -グリセロリン酸からジハイドロオキシアセトンリン酸への反応が制御されている可能性も考えられ、この問題に関しては検討の余地がある。

脂質へのとりこみは、生長休止期には開葉期と同程度に活発で、脂質合成経路は充分活発に働いていることを示している。そして、落葉期における脂質へのとりこみの急減は、脂質合成機能の低下を反映するものか、あるいはグリセロールキナーゼ活性の低下によるものかは更に検討する必要があるように考えられる。

前報¹⁾で行なった Merck の硅胶カラムによる脂質の分析は、中性脂質については問題はないが、リン脂質の分画は極めて不充分であることが判明した。すなわち、前回のカラムクロマトグラムの PC 画分は、今回の実験で PG・PE および PC・PI の両画分に分離できた。前報¹⁾の結果の一部を訂正する意味で、1月26日に戸外から室内に入れて開葉させた鉢植えのポプラを使用して実験を行なった。開葉の初期では、皮、材ともに PG・PE 画分へのとりこみが極めて大きい。それに対して、生長休止期の初期には PC・PI 画分へのとりこみが圧倒的に大きい。この傾向は皮よりも材において顕著である。このように、開葉期から生長休止期にかけてリン脂質の代謝上何らかの転換が行なわれるものと推測される。

材における DG へのとりこみは、開葉期、生長休止期および落葉期を通じて大きな変動を示した。DG は脂質代謝上、TG、リン脂質および糖脂質への分岐点にあるので、DG へのとりこみの変動は上述の各脂質への代謝速度あるいは代謝回転に関連するものと考えられる。したがって、DG へのとりこみの変動を理解するためには、長時間にわたる追跡実験が必要と考えられる。

V. 摘 要

秋の生長休止期から落葉期のポプラのグリセロール代謝を、グリセロール- $1-^{14}\text{C}$ を使ってしらべた。

1. この時期のポプラは開葉期とは対照的に、グリセロールから糖への代謝が不活発である。
2. アミノ酸および糖のリン酸エステルへのとりこみは開葉期に比べて低く、落葉期には著しく低下する。
3. 脂質へのとりこみは冬芽形成期において非常に活発であるが、落葉期には著しく低下し、真冬にはほとんどみられない。
4. 開葉期には、PG・PE 画分への大量のとりこみがみられるが、冬芽形成期には PC・PI 画分へのとりこみが圧倒的に多い。しかし、落葉期には PG・PE へのとりこみが徐々に増加する。なお、この傾向は皮において先行して進められ、材はこれよりも遅れる。
5. 脂質中の ^{14}C の分布については、開葉期と同様に脂肪酸への分布はみられず、主としてグリセロール部分に限られる。

文 献

- 1) 吉田静夫 1970 開葉期のポプラのグリセリン代謝. 低温科学, 生物篇, **28**, 63-71.
- 2) Ferrari, R. A. and Benson, A. A. 1961 The path of carbon in photosynthesis of the lipids. *Arch. Biochem. Biophys.* **93**, 185-192.
- 3) 吉田静夫 未発表.

Summary

The metabolism of glycerol in autumnal poplar twigs was investigated using glycerol-1- ^{14}C *in vivo*.

It appeared to be a characteristic of the autumnal twigs that glycerol-1- ^{14}C was hardly incorporated into sugars, while the opposite is known to be true in the spring twigs. At the same time, the incorporation of radioactivity into amino acids and sugarphosphates appeared to be very small in comparison with the spring twigs. On the other hand, a large amount of radioactivity was incorporated into lipids immediately after growth cessation. Subsequently the incorporation was remarkably decreased as leaves fell and no significant amount of incorporation was observed in winter twigs.

By means of silicic acid column chromatography, some differences in the pattern of the incorporation into each lipid fraction were found between autumnal and spring twigs.