



Title	0℃におけるポプラの糖代謝
Author(s)	匂坂, 勝之助; SAGISAKA, Shonosuke
Citation	低温科学. 生物篇, 30, 1-8
Issue Date	1972-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17792
Type	departmental bulletin paper
File Information	30_p1-8.pdf



0°C におけるポプラの糖代謝*

匂坂勝之助

(低温科学研究所)

(昭和47年8月受理)

I. 緒言

前報¹⁾でポプラの材部と皮層部における五炭糖の代謝活性をリボース-U-¹⁴Cを用いて検討した結果を述べた。本報は引続き六炭糖の代謝活性をしらべたもので、燐酸エステルを与えた場合の代謝も検討した。ポプラの枝に五炭糖や六炭糖を与えるとその大部分は速かに蔗糖に変り、その後環境温度に応じた分解のおこることがわかった。この実験過程で蔗糖合成に必要なエネルギーの生成が材部と皮層部でそれぞれ認められ、エネルギー生成活性について予備的な知見を得た。

本文で次の略号を用いた。G1P-U-¹⁴C, グルコース-1-燐酸-U-¹⁴C; G6P, グルコース 6-燐酸; F6P, フラクトース 6-燐酸; Ru5P, リブローース 5-燐酸; G6PDH, グルコース-6-燐酸脱水素酵素; ATP, アデノシントリ燐酸; G-6-¹⁴C, グルコース-6-¹⁴C; G-U-¹⁴C, グルコース-U-¹⁴C; F-U-¹⁴C, フラクトース-U-¹⁴C; G-1-¹⁴C, グルコース-1-¹⁴C; UTP, ウリジントリ燐酸; UDPG, ウリジンジ燐酸グルコース。

II. 材料と方法

材料: ポプラ *Populus gelbrica* は圃場に生育しているもので、馬鈴薯は本学農場で収穫した男爵である。越冬中のポプラ枝条は2月19日に採取し、ポリエチレンの袋に入れて-6°Cに保存した。開芽伸長中の枝は新梢が約7cmのものを使用の都度採取した。馬鈴薯は4°Cに保った。

G-6-¹⁴C, G-U-¹⁴C, F-U-¹⁴Cは第一化学薬品株式会社から購入した。G1P-U-¹⁴CはNew England Nuclear Corp.の製品である。Ru5P-U-¹⁴CはG6P-U-¹⁴Cに市販のG6PDHを作用させて調製²⁾した。用いた放射性化合物の比放射能と一試料当りの使用量は次の通りである。

	比放射能 (mc/mmole)	与えた量 (μ c, nmole)
G1P-U- ¹⁴ C	179	2.7 10
Ru5P-U- ¹⁴ C	5.2	0.84 160
G-6- ¹⁴ C	10	1.0 100
F-U- ¹⁴ C	12	1.0 83
G-U- ¹⁴ C	6.3	1.0 160

* 北海道大学低温科学研究所業績 第1204号

方法： 1) ポプラの枝条小片と馬鈴薯切片に放射性物質を定量的に与える方法， 0°C での反応，反応生成物の抽出・分離・分析の方法等は前報¹⁾と同様である。 20°C における反応は，パラフィルムに包んで 20°C の実験室で行なった。

2) Dowex 1-X4 による遊離の糖と磷酸エステルの分離方法。遊離の糖と磷酸エステルを分離する次のような簡単な方法を考案した。微量の放射性糖類を含む試料に適用出来る。

Dowex 1-X4 (OH^-) のカラム ($0.18\text{ cm}^2 \times 1.8\text{ cm}$) に約 $50\ \mu\text{l}$ の試料を加え，これが樹脂内にしみこんでからカラムを 2 ml の水で洗滌し (塩の濃度が低いときはこの洗滌液に糖は現われない)，つづいて 0.2 N 酢酸 3 ml (遊離の糖の溶出) と 0.02 N HCl を含む $0.05\text{ M NH}_4\text{Cl}$ 6 ml (磷酸エステルの溶出) で溶出する。G-U- ^{14}C と G6P-U- ^{14}C を用いた分離例を第1表に示した。回収率は約 80% であった。

第1表 Dowex 1 による糖と磷酸エステルの分離

溶 離 区 分		G-U- ^{14}C * G 6P-U- ^{14}C **		回 収 率 %
		cpm		
水 溶 出	2 ml	0	0	
0.2 N 酢 酸	3 ml	133,500	0	81
0.05 M NH_4Cl -0.02 N HCl	6 ml	0	155,800	83

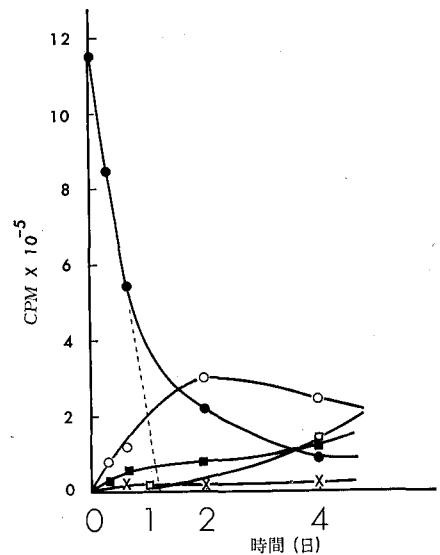
* $165,500\text{ cpm}$ を加えた

** $174,000\text{ cpm}$ を加えた

III. 結 果

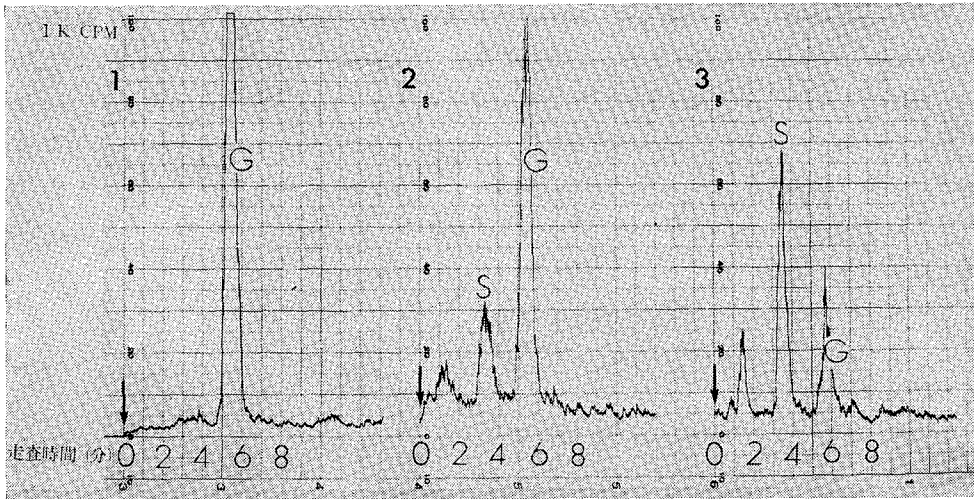
1. ポプラの枝条によるグルコースの代謝 ポプラの枝条小片に G-6- ^{14}C を与えて，その減少と代謝生成物の蓄積を経時的にしらべた結果を第1図に示した。反応開始の直後の速かな G-6- ^{14}C 消失が継続するものとして求めた半減期は 14.4 時間であった。G-6- ^{14}C の減少に伴って増加してくる主な糖は蔗糖で，次いでトレハロースと思われる糖への ^{14}C の移行がみられた。 0°C で反応させた時のフラクトースへの移行は少なく，4日後においても可溶性糖類中の 5% 以下であった。この時，蔗糖中に検出された放射能は可溶性区分の約 50% を占めた。

反応の後期になって多糖類と思われる物質に放射能の移行がみられ， n -ブタノール・酢酸・水¹⁾で展開すると原点付近に留まる。この物質については検討を行なわなかった。また， 0°C ，4日後に水で抽出されない沈澱区分に約 14% の放射能が移行した。この物質についても検討を加えなかったが熱水で約半分は抽出可能なので澱粉が可成の部分を含んでいる



第1図 越冬中のポプラ枝条によるグルコースの代謝

方法は本文参照。○，蔗糖；●，グルコース；■，トレハロース区分；×，フラクトース；□，多糖類



第2図 ポプラ枝条によるグルコース代謝物のラジオペーパークロマトグラム

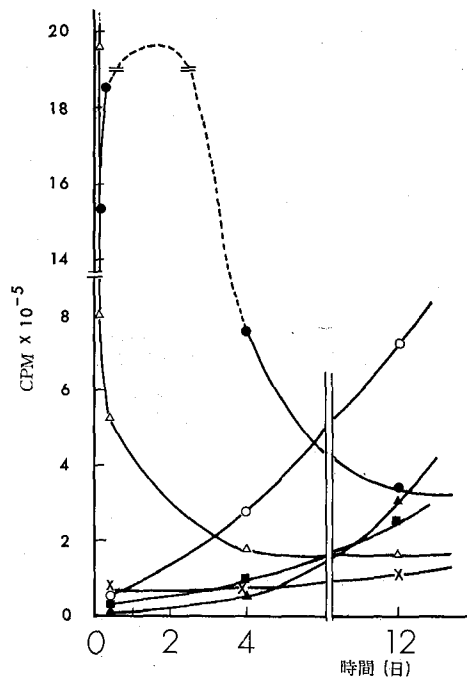
越冬中の枝条を用いた。1, 零時間反応; 2, 8時間反応 (0°C); 3, 48時間反応 (0°C); S, 蔗糖; G, グルコース。矢印はペーパークロマトグラムの原点。記録紙速度 10 mm/分, 走査速度 25 mm/分

るものと考えられる。熱水に不溶な部分に0°Cでグルコースがとりこまれることもわかったが、長い越冬期間では可成な量のグルコースが幹の成分としてとりこまれるものと考えられる。

0°C, 14時間で約 100 nmole のグルコースが 1g (乾燥重量) の枝条で蔗糖に変る。このことは蔗糖合成の機構から少なくとも 150 nmole の ATP が消費されたことを意味する。また、ポプラの皮層部では 20°C で 6 nmole 以上のグルコース (皮層部 0.1g 乾燥重量当り) が 1時間以内に蔗糖に変る。これは重量当りで前者のおよそ10倍の ATP 消費である。蓄積されていた ATP の分も含めて 1g (乾燥重量) 中で少なくとも 90 nmole の高エネルギー結合を動員し得ることを意味している。第1図に示した試料のラジオ・ペーパー・クロマトグラムを走査した結果の一部を第2図に示した。

2. ポプラの枝条による G1P-U-¹⁴C の代謝

G1P-U-¹⁴C を与えた場合の代謝経過を第3図に示した。枝条小片の切口に与えた G1P-U-¹⁴C は



第3図 越冬中のポプラ枝条による G1P-U-¹⁴C の代謝

方法は本文参照。△, 磷酸エステル中の放射能; ▲, 不溶性区分; その他の記号は第1図と同じ

遊離の糖を与えた場合と同様に導管と放射組織を通して皮層に達すると思われる。通常は約3時間(20°C)で材部と皮層部にほぼ等量存在するようになる。このような物質の移動している初期の段階でG1P-U-¹⁴Cは顕著に加水分解を受けて遊離のG-1-¹⁴Cを与えていることがわかる。従って、燐酸エステルの加水分解酵素は、移動しつつある樹液と接する導管壁の部分に存在しているものと考えられる。与えたG1P-U-¹⁴Cの減少に対応してG-1-¹⁴Cが顕著に増加し、最大量に達したのちに急速に減少することがわかる。この間に蔗糖は徐々に増加して、主要な反応生成物となる。

トレハロースと思われる物質と水不溶性の部分へのとりこみも増加していくことが明らかである。遊離のフラクトースやグルコースに移行する放射能は非常に少ない。

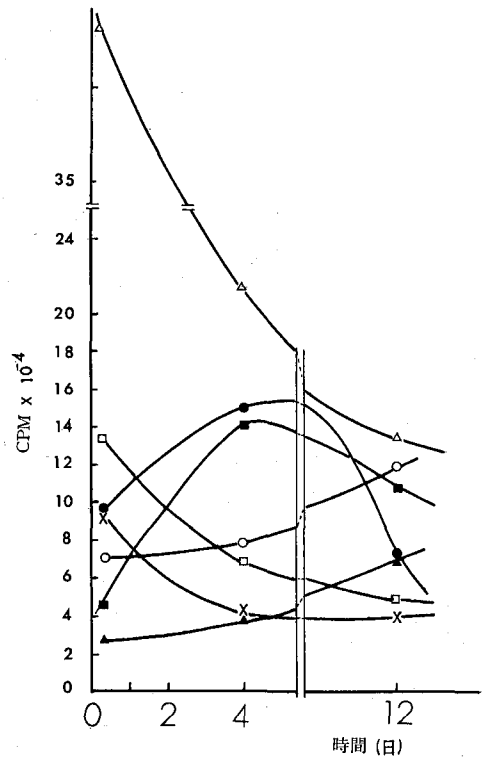
3. ポプラの枝条による Ru5P-U-¹⁴C の代謝

Ru5P-U-¹⁴Cが加水分解を受ける早さはG1P-U-¹⁴Cよりはるかに遅い(第4図)。Ru5P-U-¹⁴Cの代謝経過から加水分解を受ける時期と代謝の関係は明らかでないが、加水分解を受けることなくG6PやF6Pとなり、これが部分的に加水分解を受けながら蔗糖合成が進行すると思われる。反応の極く初期にフラクトースの生成が起るが、これは一過的なF6Pの蓄積を示すと思われる。トレハロース区分への移行が比較的活潑であることもRu5P-U-¹⁴Cの特徴であるが、一過的に増加したF6Pから更にG6Pが生成したことによるものであろう。遊離のグルコースの増加が引続いておこり、蔗糖の合成はこれらの経過後に高まっていく。

4. 冬と春の枝のグルコース代謝活性 越冬中及び開芽伸長中のポプラの皮層部と材部を分けてG-6-¹⁴Cの代謝活性をしらべた。第5図は皮層部、第6図は材部による成績である。越冬のものと同様に開芽後の材部・皮層部は共にグルコース

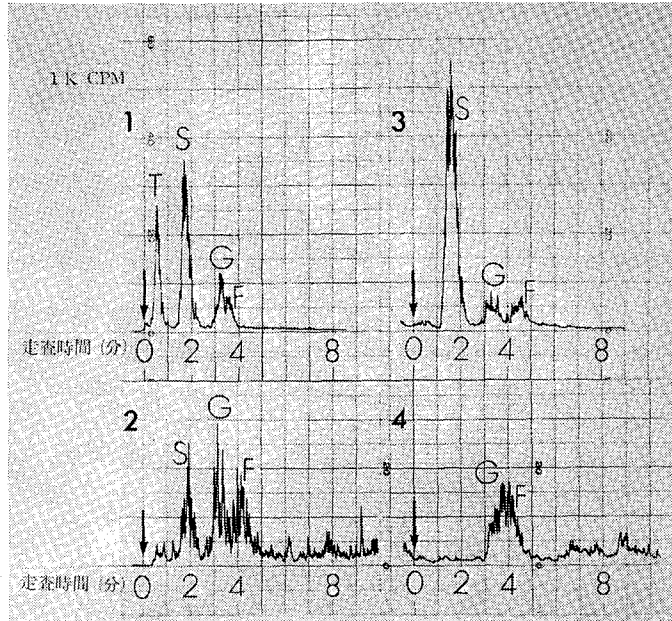
を蔗糖に変える活性が高く、時期による活性の相違を認め難いので、第5図と第6図の実験では蔗糖の分解活性の検討を目的として0°Cと20°Cで反応を行なった。

第5図から明らかなように、0°Cの反応条件下では生成した蔗糖の分解が非常に遅いが20°Cで活潑になる。0°Cでは蔗糖の分解がおそいことと蔗糖が糖類の大部分を占めることは前報¹⁾とよく一致している。蔗糖とグルコース及びフラクトース間の*in vivo*における平衡関係は温度によって異なり0°Cではそのほとんどが蔗糖(第5図1, 3)で20°Cになると六炭糖が増加してくる(第5図2と第6図)。皮層部で冬と春の相違点は、冬の材料でトレハロースに相



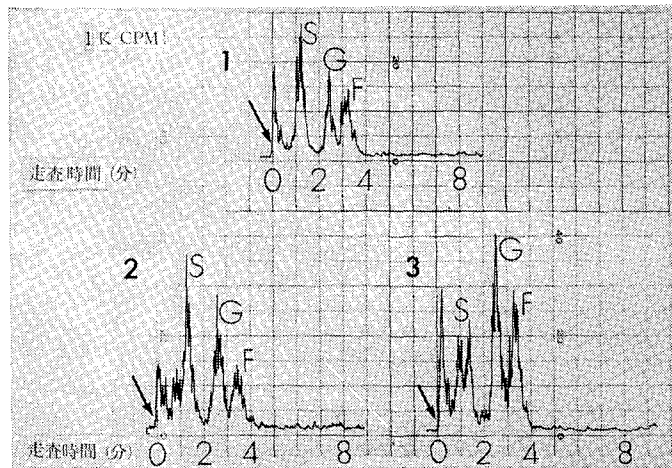
第4図 越冬中のポプラ枝条による Ru5P-U-¹⁴C の代謝

方法は本文参照。△, Ru5P; □, 五炭糖; その他の記号は第1図と同じ



第5図 越冬中及び開芽後のポプラ皮層部によるグルコースの代謝

1, 冬の皮層部 (0°C, 2日); 2, 冬の皮層部 (20°C, 2日); 3, 開芽後の皮層部 (0°C, 3日); 4, 開芽後の皮層部 (20°C, 2日)。略号は第2図参照。(T,トレハロース)。1と3はG-6-¹⁴Cからの蔗糖生成が終了して、蔗糖の合成と分解が0°Cで平衡している状態。2と4は20°CでG-6-¹⁴Cから速かに蔗糖が生成したのち急速に分解しつつある過程

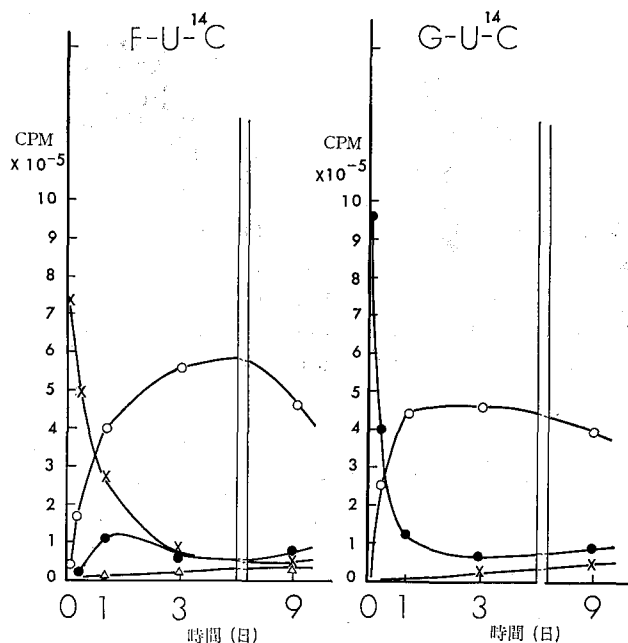


第6図 越冬中及び開芽後のポプラ材部によるグルコースの代謝

1, 開芽後の材部 (20°C, 2日); 2, 冬の材部 (20°C, 1日); 3, 冬の材部 (20°C, 2日)
略号等は第2図参照。1, 2, 3は何れも材部に与えたG-6-¹⁴Cが一旦蔗糖(とトレハロース)に変わったあとの分解過程

当する糖の生成が 0°C でみられる点である。蔗糖から生成した六炭糖の代謝は開芽後のものがより活潑であると思われる(第5図2と4)。材部よりも六炭糖の代謝が活潑である皮層部ではクロマトグラムの全体に放射能が分布していて、多くの化合物の合成が進みつつあることがわかる。材部における六炭糖代謝も開芽後のものがより活潑と思われる(第6図1と3)。

5. 馬鈴薯塊茎切片による六炭糖の代謝 $\text{G-U-}^{14}\text{C}$ 及び $\text{F-U-}^{14}\text{C}$ を馬鈴薯塊茎に与えて 0°C に保った成績を第7図に示した。この実験から、与えた六炭糖の大部分は蔗糖に変るが、 0°C においてもこの蔗糖は再び徐々に分解していくことが明らかである。 $\text{F-U-}^{14}\text{C}$ を与えた場合はグルコースへの移行が反応の初期に認められるが、グルコースを与えた場合は遊離フラクトースへの移行は初期段階に認められない。 $\text{Ru5P-U-}^{14}\text{C}$ の実験で観察した内容とよく一致している。



第7図 0°C における馬鈴薯塊茎切片の六炭糖代謝
方法は本文参照。略号は第1図と同じ

IV. 考 察

ポプラの枝条にグルコースを与えると速かに蔗糖に転換する。この現象は六炭糖とその磷酸エステル、五炭糖¹⁾とその磷酸エステルについても同様な経過をたどることがわかった。時期によって、一部分がトレハロース様の物質にとりこまれるが、蔗糖生成の活性に時期的な変化はないように思われる。 0°C で、熱水に不溶な部分へのとりこみがあるが、 $\text{G-U-}^{14}\text{C}$ のとりこまれた物質についての検討は行なわなかった。

組織内で生成した蔗糖は、低温下でも徐々に分解していくが環境温度が高まると急速にグルコースとフラクトースに加水分解される。このような環境温度によって存在する糖の種類が

変る機構の研究が必要と思われる。0°Cあるいは20°Cのいずれにおいても枝条小片に与えた大部分のG-6-¹⁴Cは必らず蔗糖に変る。この活性は材部と皮層部の両方に存在する。

外部から与えた単糖を一旦蔗糖に変えてから利用するしくみは、植物組織に可成共通しているものようである。ポプラと同様に馬鈴薯塊茎でも五炭糖¹⁾と六炭糖から蔗糖が合成されたからである。また、分解過程に関しても両者は類似の経過を示したからである。

代謝経路上で合成と分解反応系の基質の区別や内生的と外生的基質に対する識別がはっきりしていて、同一基質に対して異なった生化学的反応を示す例³⁾が古くから知られている。このようなcompartmentation, つまり細胞内の“機能別区画割”はその後糖代謝系⁴⁾、脂質代謝系⁵⁾等に広く見出されている。細胞にとりこむ時は環境温度の高低に関係なく単糖類を一旦蔗糖に変え、その後条件に応じて再びグルコースとフラクトースに水解しながら利用していくポプラの糖代謝は、細胞内に代謝機能別区画割の存在を示唆している。しかし、蔗糖生成の機能は冬・春共に同様と思われるので耐凍性の変動と直接の関係は無いと結論されよう。また、冬型と春(夏)型とに糖代謝を分けた²⁾が、蔗糖合成系はこの型の分類に関係がない。

ポプラの細胞における高エネルギー磷酸化合物としてUTP⁶⁾がどのような役割を果たしているかについてはまだよくわかっていない。蔗糖の合成される活性から判断して0°Cにおいても活潑にエネルギーが生成していることは明らかである。0°Cで1g(乾燥重量)の枝は14時間におよそ100 nmoleのグルコースを蔗糖に変えるからUDPGを経る反応系を考えると、少なくとも約1時間に11 nmoleの高エネルギー結合を生成したことを示している。20°Cでは約90 nmole(枝1g乾燥重量/時間)の数値が得られた。この数値は炭酸ガスの発生量⁷⁾から計算し得る理論上の高エネルギー生成量とよく一致する。

冬型と春型の代謝転換機構とこれに伴うcompartmentationの変化の研究と共に、0°Cの近傍及びこれ以下の温度におけるエネルギー生成の機構と制御作用の研究が大切な課題と思われる。

V. 摘要および結論

1. ポプラの枝条小片にグルコース等の単糖類を与えると環境温度の高低に関係なく主要な部分は蔗糖に変る。
2. グルコースから蔗糖が合成される半減期は0°Cで約14時間であった。
3. 材部と皮層部は共に蔗糖合成の活性を有し、生活時期による違いは認められなかった。
4. G1PとRu5Pの代謝を検討し、遊離グルコースの代謝と比較した。
5. 馬鈴薯の切片においてもポプラの枝条小片と同様の代謝を行なうことがわかった。外生の単糖類から蔗糖の合成が速かに進行するのは植物に一般的な現象と考えられる。
6. 蔗糖が合成される時に使われるエネルギー量から、0°Cと20°Cで単位時間にポプラ枝条内で生成し得るエネルギー量に考察を加えた。

文 献

- 1) 匂坂勝之助 1971 0°Cにおけるポプラと馬鈴薯塊茎のリボース-U-¹⁴C代謝. 低温科学, 生物篇, **29**, 29-38.
- 2) 匂坂勝之助 1970 植物の低温生化学的研究 VIII. 冬型代謝の転換と分解およびとりこみの反応について. 低温科学, 生物篇, **28**, 49-56.
- 3) Abelson, P. H. and Vogel, H. J. 1955 Amino acid biosynthesis in *Torulopsis utilis* and *Neurospora crassa*. *J. Biol. Chem.*, **213**, 355-364.
- 4) Kalant, N. and Beitner, R. 1971 Intracellular compartmentation of glycolytic phosphate esters. *J. Biol. Chem.*, **246**, 504-507.
- 5) Kobr, M. J. and Beevers, H. 1971 Gluconeogenesis in the castor bean endosperm I. Changes in glycolytic intermediates. *Plant Physiol.*, **47**, 48-52.
- 6) 匂坂勝之助 1971 ポプラのホスホフラクトキナーゼについて. 低温科学, 生物篇, **29**, 39-45.
- 7) Sagisaka, S. 1972 The decrease of glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate dehydrogenase activities in the xylem of *Populus gelrica* on budding. *Plant Physiol.*, in press.

Summary

Glucose-6-¹⁴C was transfused quantitatively into a piece of wintering or budding poplar twigs, to see the difference, if any, in the activity to metabolize glucose as well as to synthesize sucrose. It was found that there was no large difference in the activity to form sucrose. The half life of glucose-6-¹⁴C transfused into the wintering twigs was about 14 hours at 0°C. In addition to glucose, phosphate esters, such as glucose 1-phosphate-U-¹⁴C and ribulose 5-phosphate-U-¹⁴C, were transfused into a piece of poplar twigs. Exogeneous sugars and their phosphates fed into a piece of the twigs (or fed into a section of xylem or bark) were converted once to sucrose, which then degraded subsequently giving endogeneous hexoses when the cell required materials. A possible participation of cellular compartmentation in the sugar metabolism in poplar twig was discussed.