

名古屋女大短大 ○竹内若子 高橋平八郎

名古屋大農 小島峯雄

目的 もやし豆の実生中に、ポリフェノール成分の生合成に関与すると考えられる膜系酵素p-クマル酸水酸化酵素を検出したので、その性質・細胞内局在性また、本酵素の精製を試みることにした。

方法 酵素液: 3日間暗所で発芽生育させた後、光照射したもやし豆実生を磨碎後、弱遠心してdebris等を除去した上清をさらに15,000×g 15分間(4°C)で遠心して膜画分を得た。この沈澱を緩衝液に再懸濁させたものを粗酵素液として用いた。

可溶化及び分離: 上記で得られた膜画分に冷アセトンを加えて磨碎したあと、吸引濾過し、乾燥粉末を得た。このアセトン粉末から膜可溶化剤のn-Octyl-β-D-thioglucosideを用いて抽出し、35%硫酸飽和の上清画分について疎水クロマトグラフィー等により分離精製を行った。

結果 本酵素は実生中の細胞内小器官にも局在し、この局在酵素はp-クマル酸に高い特異性を示し、O<sub>2</sub>とともにNADPH、アスコルビン酸存在下でこれを水酸化しコーヒ酸を生成するのでオキシゲナーゼの一種と考えられた。

もやし豆実生における各器官での本酵素活性は、子葉中の膜画分において酸化酵素活性(PP<sub>0</sub>)が最も低く、p-クマル酸水酸化酵素活性比率の高い画分が検出され、葉や胚軸のそれとは両者の活性比率、その他の点で性質を異にしていた。実生全体の膜画分では、PP<sub>0</sub>活性も認められたが、この活性比率の高いp-クマル酸水酸化酵素活性画分が得られたのでこれを本酵素の精製に用いた。