

野菜・果物中のグリコシダーゼ活性に関する調査

山谷 大貴・佐藤 将太・吉田 孝

弘前大学農学生命科学部分子生命科学科

(2023年10月27日受付)

緒言

植物には、貯蔵性糖類や細胞壁多糖など様々な糖質が含まれており、それらの分解にはグリコシダーゼ（糖質分解酵素）が関与すると考えられる^{1,2)}。また植物が作る糖タンパク質には、 α フコースや β ガラクトース、 β キシロースなどが末端に結合した植物型糖鎖が結合しており³⁾、その分解・代謝の場面にもグリコシダーゼが係わることが予想される。植物生理におけるグリコシダーゼの機能解明の端緒として、本研究では多種類の野菜・果物の抽出液について網羅的に酵素活性の測定を行った。

実験材料・方法

1. 実験材料

リンゴのうち「つがる」は弘前大学藤崎農場で収穫されたものを使用した。それ以外の野菜・果実類は弘前市内にて購入した。

2. 実験方法

(1) 酵素の抽出

野菜・果物の可食部を細かく細断した後、等量の蒸留水を加え、ミキサーでホモジナイズした。その後、不織布フィルターによりろ過し、ろ液を粗抽出液とした。

(2) 酵素活性の測定

96穴プレートのウェル中にて200mM 酢酸バッファー (pH 5.0) 20 μ l, 2 mM *p*-nitrophenyl glycoside (pNPG) 水溶液40 μ l, 粗酵素液40 μ lを混合し、40°Cで一定時間加温した。反応後、1 M 炭酸ナトリウム水溶液100 μ lを加えて反応停止し、マイクロプレートリーダーで405nmでの吸光度を測定した。酵素活性 1 unitは1分間に1 μ molのpNPGを分解するために必要な酵素量とした。

基質には以下のpNPGを用いた（カッコ内は購入元）。
4-nitrophenyl- α -D-mannopyranoside (Sigma)

4-nitrophenyl- β -D-mannopyranoside (Sigma)
4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (Sigma)
4-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (ナカライ)
4-nitrophenyl- α -D-galactopyranoside (Sigma)
4-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (Sigma)
4-nitrophenyl- α -D-fucopyranoside (Sigma)
4-nitrophenyl- β -D-fucopyranoside (Sigma)
4-nitrophenyl- β -D-glucuronopyranoside (Sigma)
4-nitrophenyl- β -D-xylopyranoside (東京化成工業)
4-nitrophenyl- β -D-lactopyranoside (Sigma)
4-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide (Sigma)

実験結果と考察

99種類の野菜・果物抽出液について12種類のpNPG基質の分解活性を調べたところ、ニンニク、イチジク、アスパラガス、タマネギなどで高いグリコシダーゼ活性が見られた（図1）。トマトや唐辛子で追熟に関係すると報告された α -マンノシダーゼ、 β -N-アセチルグルコサミニダーゼについては^{4,5)}、アスパラガス、キャベツ、ズッキーニ、タマネギ、ニンニク、ナガイモなどにも高い活性が示された。マルトオリゴ糖や α グルコース配糖体の分解に係わる α -グルコシダーゼ活性は、チンゲンサイを除けば全般に低かったが、 α -ガラクトシダーゼ活性は多くの野菜で有意に高く検出され、特にニンニク、ナガイモ、トウモロコシ、キャベツなどで高い活性が見られた。スタキオース、ラフィノースなど、非還元末端に α ガラクトースの付いた植物性オリゴ糖との関連に興味を持たれる。なお今回の調査ではフラクタン（果糖を含む多糖）の分解に係わる酵素については不明である。野菜や果実は種類により水分量が異なり、保存期間・条件も多様であるため、得られた数値はあくまでも抽出液に含まれる酵素活性の相対的な傾向として見るべきであるが、これらのデータは特定の野菜・果実中の酵素について詳細に調べる際の参考になるとと思われる。

参考文献

1. 加藤陽治・伊藤聖子・渡部敏幸：果実類の水不溶性食物繊維の多糖組成. 弘前大学教育学部紀要, 第**86**号: 91-96, 2001.
2. 石水毅・竹中悠人：植物細胞ペクチンの構造と機能. 応用糖質科学 **10**: 215-221, 2020.
3. MAEDA, M., KIMURA, M., and KIMURA, Y.; Intracellular and extracellular free N-glycans produced by plant cells: occurrence of unusual plant complex-type free N-glycans in extracellular spaces. *J. Biochem.* **148**: 681-692, 2010.
4. MELI, V. S., GHOSH, S., PRABHA, T. N., CHAKRABORTY, N., CHAKRABORTY, S., and DATTA, A.: Enhancement of fruit shelf life by suppressing N-glycan processing enzymes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* **107**: 2413-2418, 2010.
5. GHOSH, S., MELI, V. S., KUMAR, A., THAKUR, A., CHAKRABORTY, N., CHAKRABORTY, S., and DATTA, A.: The N-glycan processing enzymes α -mannosidase and β -D-N-acetylhexosaminidase are involved in ripening-associated softening in the non-climacteric fruits of capsicum. *J. Exp. Bot.* **62**: 571-582, 2011.

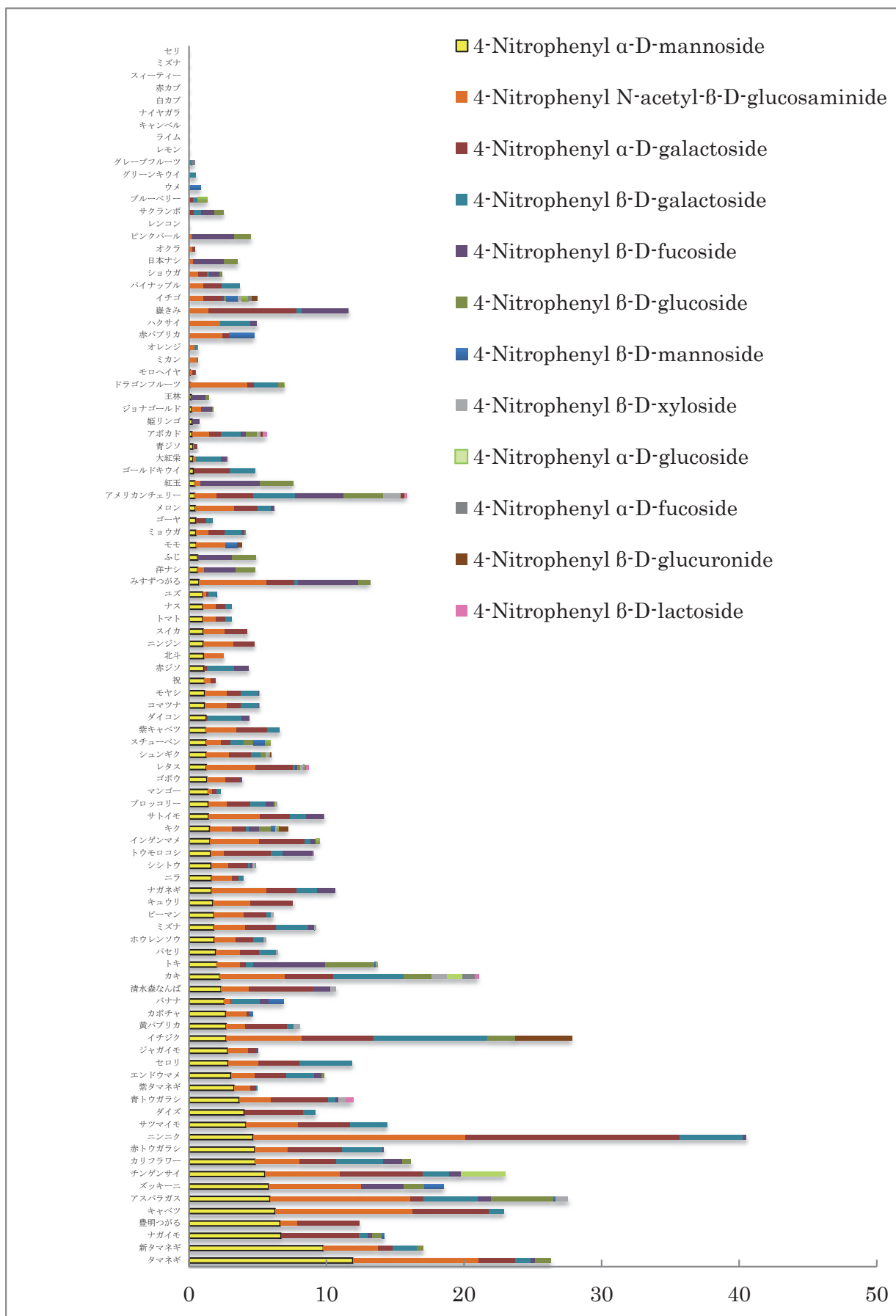


図1. 果実・野菜中のグリコシダーゼ活性
酵素活性は野菜100g当たりのunit数として表示した。

Survey of glycosidase activities in vegetables and fruits

Daiki YAMAYA, Shota SATO, and Takashi YOSHIDA

Faculty of Agriculture & Life Science, Hirosaki University, Hirosaki 036-8561, Japan

(Received for publication October 27, 2023)

SUMMARY

Glycosidases (carbohydrate hydrolyzing enzymes) are involved in the decomposition of stored glycan and cell wall carbohydrates in plants. In this study we used 12 kinds of *p*-nitrophenyl glycosides to investigate the activity of glycosidases for 99 kinds of vegetables and fruits. The results showed that garlic, figs, asparagus, and onions had high glycosidase activity. The α -mannosidase and β -N-acetylglucosaminidase, those were reported to be involved in ripening of tomatoes and peppers, were also highly active in asparagus, cabbage, zucchini, onion, garlic, and Nagaimo. α -Galactosidase activity was observed in many vegetables, and was high in garlic, potato, corn, and cabbage. These data will be useful for detailed studies of specific glycosidases found in vegetables and fruits.

Bull. Fac. Agric. & Life Sci. Hirosaki Univ. **No.26**: 11–14, 2024