

Amino Acid Analysis of Seed Proteins in Japanese Alnus

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-12-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00056391

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



鳴橋直弘*・長阪博文**・桃谷好英***: 日本産ハンノキ属 種子蛋白質のアミノ酸分析

Naohiro NARUHASHI*, Hiroyumi NAGASAKA** and Yoshihide MOMOTANI ***:
Amino Acid Analysis of Seed Proteins in Japanese *Alnus*

植物成分を分析して、その類似から分類群の類縁を探る研究が近年増加しつつある (ALSTON & TURNER, 1963)。蛋白質は植物成分中最も重要な構成要素として、またその特異性のきわめて著しいことなどにより、数多く研究対象として取扱われている (MOMOTANI, 1962; ALSTON & TURNER, 1963; WATTS, 1970; BOULTER & DERBYSHIRE, 1971; SMITH, 1976)。ここでは種子蛋白質の異同をアミノ酸分析によって調べ、それと分類群との相関関係を調べることを目的とした。本実験は1973年に行なわれた。

材 料

アミノ酸分析の材料は日本産ハンノキ属植物の全ての種を用い、また属間比較のためカバノキ属とクマシデ属の種子をも使用した。Fig. 1 は材料の種子で、それらの採集地、採集者、採取日は Table 1 に示した。

実験方法

1. 2 g (又は 5 g) の種子を乳鉢でホモジネート (バッファー: Tris-HCl 0.01M, pH 8.0) し、全量約 50 cc (5 g の場合は約 100 cc) とする。
2. 遠心分離する (5000 × g, 50分)。
3. 冷凍室又は冷蔵庫内で約半日 (5 g の場合は約 1 日) 吸引濾過 (マイクロフィルター 0.3 μ) する。
4. コロジョンパックで 1 ~ 2 cc (5 g の場合は約 6 ~ 20 cc) に濃縮する。
5. 蛋白質濃度をほぼ一定にするために、分光光度計でトリプトファン含量を計る。
6. 一定量を試験管にとり、真空乾燥する。
7. 5.7 N HCl を加え再び真空にし、アンプル状にして封する。
8. アンプルを電気加水分解炉に入れ、105°C で 24

Table 1. Species used in the analysis

N : N. NARUHASHI, N & N : N. NARUHASHI & H. NAGASAKA

Species	Locality	Collector	Date
<i>Alnus maximowiczii</i> CALL.	Toyama-ken, Mt. Tateyama	N	Oct. 25, 1972
<i>A. pendula</i> MATSUM.	Toyama-ken, Nozumi in Yatsuo-machi	N	Nov. 7, 1972
<i>A. firma</i> SIEB. et ZUCC.	Nagano-ken, Ootaki-mura	N & N	Sept. 27, 1973
<i>A. sieboldiana</i> MATSUM.	Shizuoka-ken, Shizuoka-shi	F. Konta	Dec. 2, 1972
<i>A. serrulataoides</i> CALL.	Gifu-ken, Furukawa in Takayama-shi	N	Nov. 16, 1972
<i>A. fauriei</i> LÉV.	Toyama-ken, Nozumi in Yatsuo-machi	N	Nov. 7, 1972
<i>A. japonica</i> (THUNB.) STEUD.	Aichi-ken, Tsukude-mura	N & N	Sept. 29, 1973
<i>A. trabeculosa</i> HAND.-MAZZ.	Aichi-ken, Tsukude-mura	S. Gonda	Sept. 28, 1972
<i>A. hirsuta</i> TURCZ. v. <i>sibirica</i> SCHN.	Toyama-ken, Nozumi in Yatsuo-machi	N	Nov. 7, 1972
<i>A. matsumurae</i> CALL.	Toyama-ken, Mt. Tateyama	N	Nov. 25, 1972
<i>Betula ermanii</i> CHAM.	Nagano-ken, Mt. Norikura	N & N	Sept. 27, 1973
<i>B. platyphylla</i> SUKAT. v. <i>japonica</i> HARA	Toyama-ken, Takaoka-shi cult.	N	Sept. 20, 1973
<i>Carpinus japonica</i> BL.	Toyama-ken, Toga-mura	N & N	Sept. 23, 1973
<i>C. laxiflora</i> (SIEB. et ZUCC.) BL.	Toyama-ken, Oonagatani in Yatsuo-machi	N & N	Sept. 24, 1973

*〒930 富山市五福3190 富山大学理学部生物学教室 Department of Biology, Faculty of Science, Toyama Univ., Toyama 930

**〒586 河内長野市栄町30-14 Sakae-cho 30-14, Kawachi-nagano, Osaka 586

***〒591 堺市百舌鳥梅町4 大阪府立大学総合科学部 College of Integrated Arts & Science, Univ. of Osaka Pref., Sakai, Osaka 591

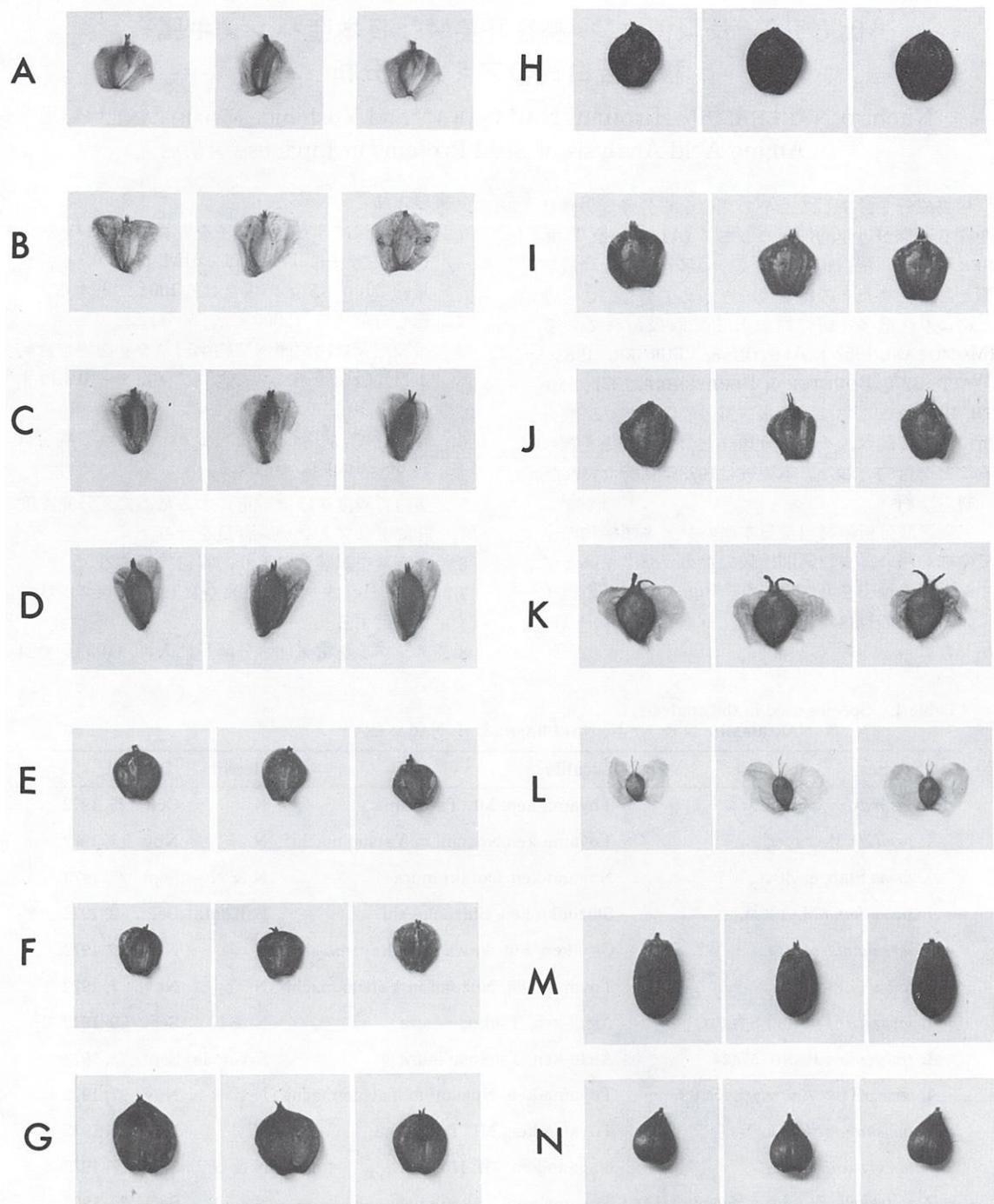


Fig. 1. Seeds used in the analysis

A: *Alnus maximowiczii*, B: *A. pendula*, C: *A. firma*, D: *A. sieboldiana*, E: *A. serrulatoides*, F: *A. fauriei*, G: *A. japonica*, H: *A. trabeculosa*, I: *A. hirsuta* var. *sibirica*, J: *A. matsumurae*, K: *Betula ermanii*, L: *B. platyphylla* var. *japonica*, M: *Carpinus japonica*, N: *C. laxiflora*

時間放置する。

9. アンプルを切り真空乾燥する。

10. 試料希釈液 (pH 2.2) 5cc で試料を溶かし, アミノ酸自動分析装置 (柳本 LC5S 型) にかける。

11. 分析装置から出てきたデータはWH法に従って解析する。

結 果

トリプトファンとシスティンはこの加水分解法で

は同時に分解され、アスパラギンやグルタミンはアスパラギン酸とグルタミン酸になってしまう。それ故、分析されるアミノ酸の種類は16である。またデータをWH法により各アミノ酸を定量した。その結果を16g窒素中アミノ酸gとしてTable 2に示した。

対象試料すべてについてグルタミン酸の量が最大になったので、グルタミン酸量を1として他のアミノ酸の相対比率を算出した。これはまたスターダイヤグラムに表現する際の図形の均等化を計ったものである。このように整理されたデータをスターダイヤグラムに表現したのがFig. 2である。

考 察

種のアミノ酸組成の類似をスターダイヤグラムの図形の相互比較によって考察する場合、顕著な図形の似通りが必要である。Fig. 2のABC, EF, IJはそれぞれ同一節に分類されているが、図形の類似はそれを保障していないように思える。このことから、従来いわれてきた種の類縁関係(村井, 1962, 1963 & 1964)を種子蛋白質のアミノ酸組成が顕著に反映していない事を示している。

次に、このFig. 2からスターダイヤグラムのどれとどれがより似ていて、どれが違うかを判別することが困難なので、BRAY-CURTIS序列法(伊藤, 19-77)によって、それらの遠近関係を調べた。その結果、個々の種のアミノ酸組成を類似度指数を用いて座標配置したのが、Fig. 3である。また同じ節に分類される種は点線で、同じ属のものは実線で、それぞれ囲まれている。この図では、類似のものは相互

に近い位置に、異なるものは離して配置されている。この結果も、スターダイヤグラムからの結果と同じく、従来の分類体系を反映していない。

更に、各種のスターダイヤグラムを全て重ね合わせてハンノキ属、カバノキ属、およびクマシデ属を通じて共通の特徴を拾つてみたのがFig. 4である。図から明らかなように、ヒスチジン、プロリン、メチオニンが相対的に低い含量を、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸が相対的に高い含量を示している。またアスパラギン酸、グリシン、バリンは、平(1962, 1963 & 1966)のイネ科種子60種、EL-NOCKRASHYら(1969)のワタ属種子23種2変種、およびマメ科種子数種(BOULTER & DERBYSHIRE, 1971)のものと比較すると、相対的含有量が高いことがわかった。

最後に種子を集めるにあたって御援助下さった近田文弘氏、権田昭一氏、橋本竹二郎氏に深く感謝します。また本研究は昭和48年度科学研究費補助金(454-9008-874204)による成果の一部である。

参考文献

- ALSTON, R. E. & B. L. TURNER, 1963. Biochemical Systematics pp. 91-118, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J.
- BOULTER, D. & E. DERBYSHIRE, 1971. In "Chemosystematics of the Leguminosae", J. B. HARBORNE, D. BOULTER & B. L. TURNER, eds., pp. 285-308, Academic Press, London & New York.
- EL-NOCKRASHY, A. S., J. G. SIMMONS, & V. L.

Table 2. The amino acid composition of the protein in the seed (calculated to g amino acid/16g N)

Lys: lysine, His: histidine, Arg: arginine, Asp: aspartic acid, Thr: threonine, Ser: serine, Glu: glutamic acid, Pro: proline, Gly: glycine, Ala: alanine, Val: valine, Met: methionine, Ileu: isoleucine, Leu: leucine, Try: tyrosine, Phe: phenylalanine.

Amino Acids	Lys	His	Arg	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Val	Met	Ileu	Leu	Tyr	Phe
<i>Alnus maximowiczii</i>	4.5	1.0	6.2	15.8	5.5	6.4	23.0	2.0	6.2	6.0	4.0	2.3	3.7	6.5	3.3	3.6
<i>A. pendula</i>	3.8	2.0	10.6	11.4	3.5	5.7	22.5	1.5	6.1	4.1	4.7	1.2	3.1	6.4	7.8	5.7
<i>A. firma</i>	3.3	1.3	8.3	16.4	4.2	7.3	26.2	2.6	6.5	3.6	4.5	2.2	2.8	4.8	2.3	3.6
<i>A. sieboldii</i>	5.2	2.8	14.8	11.1	3.3	5.6	18.3	1.9	6.2	4.7	6.1	2.2	3.5	7.0	2.6	4.5
<i>A. serrulataoides</i>	3.0	2.2	8.0	10.9	4.6	6.5	22.3	2.5	6.8	4.5	5.9	2.5	3.8	6.5	6.6	3.5
<i>A. fauriei</i>	4.0	2.5	12.1	11.5	5.7	6.5	17.7	2.7	7.0	4.8	5.9	1.5	3.6	5.7	3.5	5.2
<i>A. japonica</i>	5.6	2.6	8.1	13.3	4.8	7.0	20.6	1.7	6.2	4.1	6.1	0.5	4.1	6.0	1.9	7.5
<i>A. trabeculosa</i>	6.1	2.3	7.6	12.6	6.3	8.7	15.0	1.6	6.1	7.4	5.8	2.0	4.4	7.6	3.2	3.3
<i>A. hirsuta</i>	6.2	2.0	5.3	13.4	8.0	7.5	15.0	2.3	4.7	4.2	6.2	2.8	5.2	6.3	6.0	5.1
<i>A. matsumurae</i>	3.5	2.1	7.6	16.4	5.2	6.4	20.1	2.6	7.2	4.8	5.1	2.3	3.8	6.1	2.9	4.1
<i>Betula ermanii</i>	3.8	2.2	11.6	15.4	5.7	7.2	18.5	3.3	8.7	2.9	4.7	2.5	3.7	4.7	1.1	3.8
<i>B. platyphylla</i>	6.5	2.8	7.0	12.9	6.7	7.7	14.9	3.1	6.2	4.5	5.5	1.9	4.1	4.9	4.5	6.7
<i>Carpinus japonica</i>	2.6	0.9	8.5	13.3	2.9	9.4	19.1	4.7	8.7	3.7	3.1	2.9	2.6	5.8	5.3	6.4
<i>C. laxiflora</i>	5.9	1.2	12.2	12.1	6.5	8.0	14.8	2.5	7.5	6.0	5.9	0.7	3.2	4.4	6.8	2.1

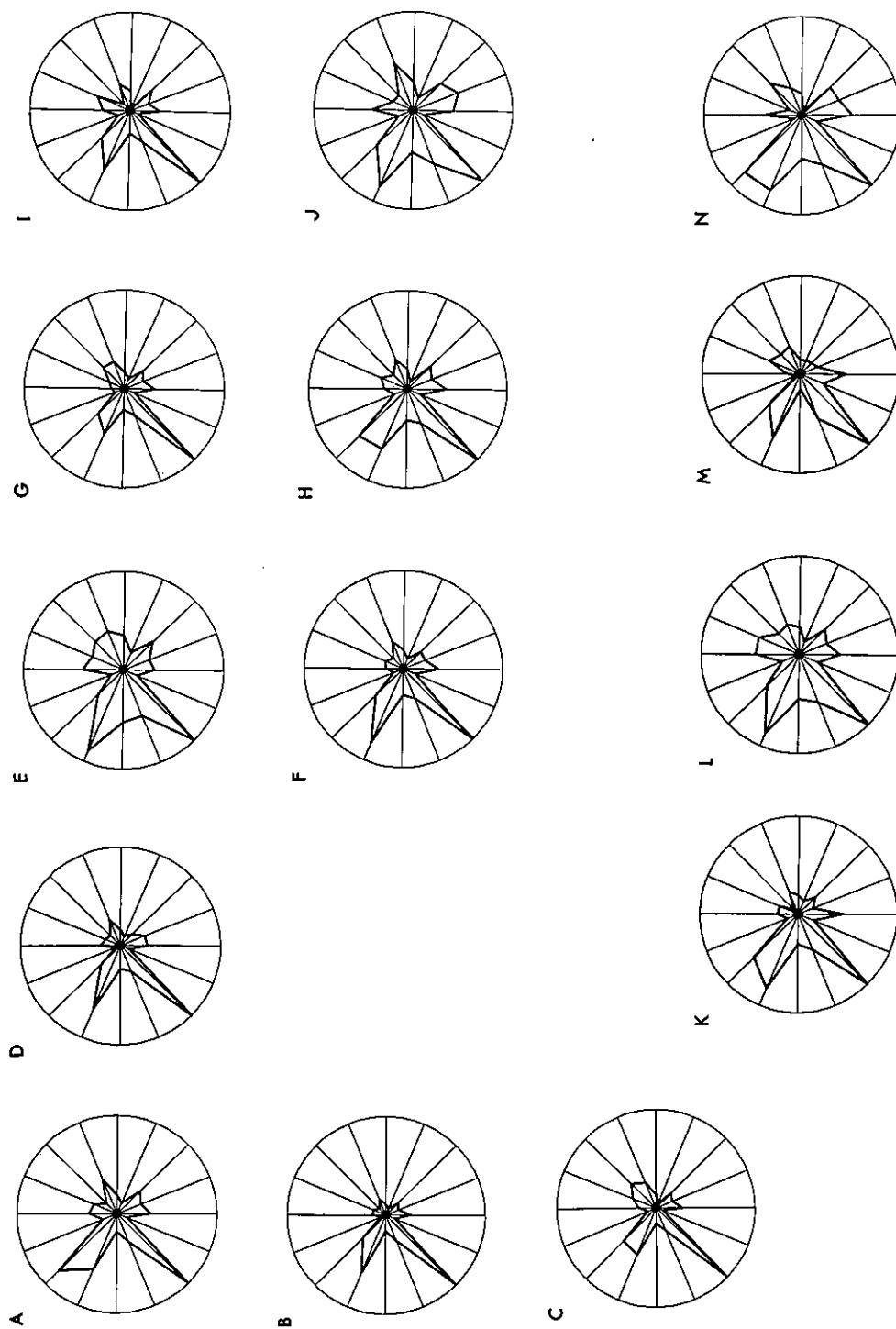


Fig. 2. Star diagrams based on the amino acid composition, in which glutamic acid was calculated as 100% for comparison. Each axis shows the relative values of sixteen amino acids in Table 2 (For the kinds of amino acids, see Fig. 4).
 A: *Ailanthus maximowiczii*, B: *A. pendula*, C: *A. firma*, D: *A. serrulata*, E: *A. sieboldiana*, F: *A. furiei*, G: *A. japonica*, H: *A. trabeolosa*, I: *A. hirsuta* var. *sibirica*, J: *A. mitsumuriae*, K: *Betula ermanii*, L: *B. platyphylla* var. *japonica*, M: *Carpinus japonica*, N: *C. laxiflora*

FRAMPTON, 1969. A chemical survey of seeds of the genus *Gossypium*, *Phytochemistry* 8: 1949–1958.

伊藤秀三編, 1977. 群落の組成と構造 植物生態学講座 2 pp. 5–14, 朝倉書店。

MOMOTANI, Y., 1962. Taxonomic Study of the Genus *Acer*, with Special Reference to the Seed Protein II, *Mem. Coll. Sci. Univ. Kyoto B*, 29(1): 81–102.

村井三郎, 1962. 邦産ハンノキ類の植物分類地理学

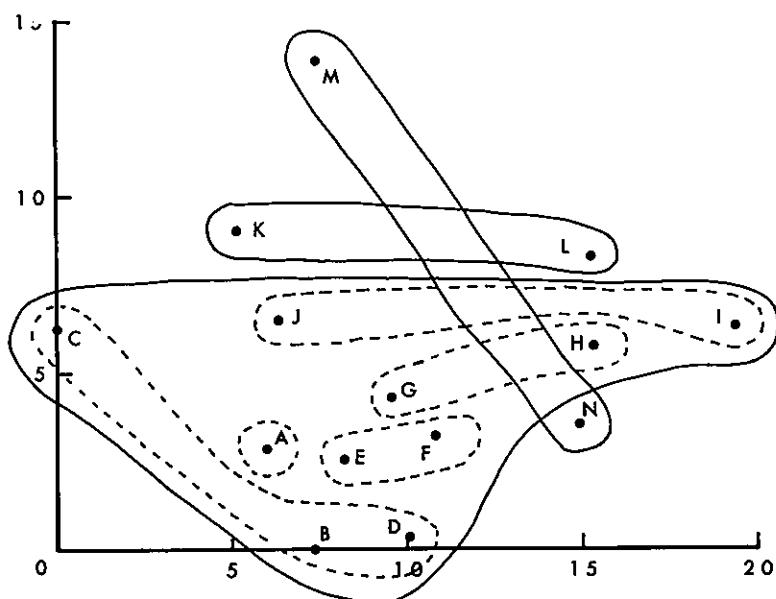


Fig. 3. Distribution of the patterns in Fig. 2 based on BRAY-CURTIS ordination method. Both axes show similarity index. Alphabet shows the species in Fig. 2. Species belonging to the same section are surrounded by a dotted line, and those of the same genus are surrounded by a solid line.

A: Sect. *Alnobetula*; B, C & D: Sect. *Bifurcatus*; E & F: Sect. *Fauriae*; G & H: Sect. *Japonicae*; I & J: Sect. *Glutinosae*

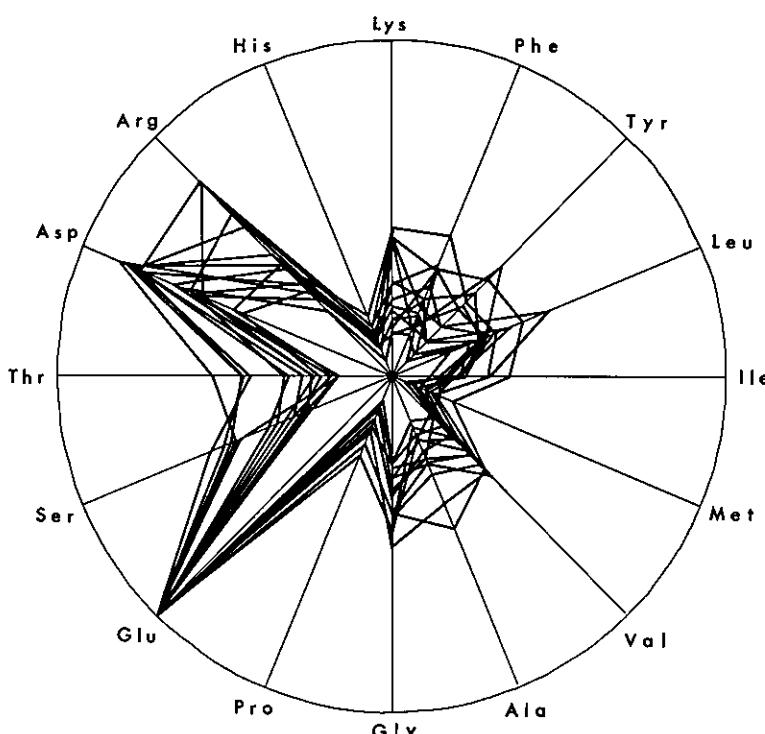


Fig. 4. Star diagrams of all species used in the analysis

的研究, 第 I 報 林業試驗場研究報告, No. 141: 114-166.

———, 1963. ibid. 第 II 報 同誌, No. 154: 21-72.

———, 1964. ibid. 第 III 報 同誌, No. 171: 1-107.

平 宏和, 1962. 種子のアミノ酸組成に関する研究 I, 植物学雑誌, 75: 242-243.

———, 1963. ibid. III 同誌, 76: 340-341.

———, 1966. ibid. IV 同誌 79: 36-48.

SMITH, P. M., 1976. The Chemosystematics of Plants pp. 36-47 & pp. 128-152, Arnold, London.

WATTS, R. L., 1970. In "Phytochemical Phylogeny", HARBORNE, J. B., ed., pp. 145-178, Academic Press, London & New York.

Summary

The amino acid patterns of the seed proteins in Japanese *Alnus* and closely related genera, *Betula* and *Carpinus*, are reported.

Materials are shown in Fig. 1 and Table 1. The amino acid compositions of the individual species are reported in Table 2.

For the comparison of the results, star diagram (Fig. 2) and BRAY-CURTIS ordination method (Fig. 3) are used.

It can be concluded that there are not the conspicuous correlations between amino acid patterns and the taxonomy.

The seeds used in the analysis show lower levels of histidine, proline, and methionine, and higher levels of arginine, aspartic acid, glutamic acid among amino acid contents (Fig. 4). In comparison with other available data, these seeds show much higher in aspartic acid, glycine, and valine in the relative amount of the amino acid composition.