

# スイートコーンの成熟過程における塩基、 ヌクレオシド含量の変化

建石耕一・柴田久夫\*・飯島隆志\*\*

信州大学農学部 食品化学研究室

トウモロコシにはデントコーン、ワキシーコーン、スイートコーンなどがあるが、スイートコーンは未熟期に収穫して加工用あるいは青果として食用に供するところが他のトウモロコシと異なる点である。トウモロコシの貯蔵多糖の主成分は他の植物種子と同様に澱粉である。しかしながらスイートコーンは植物界では例外的にグリコーゲンを含むのが特徴である。グリコーゲンは動物及び微生物の貯蔵多糖として普遍的に存在する。グリコーゲンが冷水可溶であるのに対して澱粉は冷水不溶である。澱粉、グリコーゲンの生合成は LELOIR<sup>1)</sup> の糖ヌクレオチドの発見を契機としてかなりのところまで明らかにされてきた。これら多糖類の生合成は生体内ヌクレオチドレベルと密接に関係していることはいうまでもない。著者らはこのような観点からスイートコーン種実内におけるヌクレオチドレベルを測定して、成熟過程との関係を調べようとしたものである。一方動物、微生物におけるヌクレオチドの生合成は WRIGHT, KORNBERG, LIEBERMAN, REICHARD<sup>2)</sup> らによってほぼ明らかにされた。1960年、REIFER<sup>3)</sup> は高等植物においても塩基やヌクレオシドがヌクレオチド生合成の前駆体であることを初めて明らかにした。

## 実験材料及び方法

### 1 実験材料

供試材料は露地普通栽培されたスイートコーン (*Zea Mays* L. *Saccharata*) のゴールドンクロスバンダムで、外観上穂軸から絹糸が抽出した時を受粉時とみなし、絹糸抽出(受粉)後日数を熟度の基準とした。受粉後10, 13, 15, 18, 20, 25, 30日の熟度で収穫された試料は、直ちに $-20\sim-30^{\circ}\text{C}$ に凍結貯蔵され実験に供試された。穂軸の部位によって種子の熟度が異なるので、平均的熟度の種子を得るために上, 中, 下の三部位に長さを三等分したうちの中位に当る部分から種子を採取した。

### 2 塩基及びヌクレオシドの抽出

抽出は POTTER<sup>4)</sup> らの方法によって行った。凍結貯蔵されたスイートコーン種子に予め氷冷しておいた  $0.8\text{ N HClO}_4$  を5~7倍量加えてホモジナイザーで磨砕した後二重にしたガーゼでしぼりとり、 $3000\text{ rpm}/20$ 分で遠心分離し、その上清を  $10\text{ N KOH}$  で  $\text{pH } 6.8$  に中和した。2回目の抽出は残渣を  $0.8\text{ N HClO}_4$  にけんたくし更に2回抽出を繰り返して1

\* 分析化学研究室

\*\* 現在飯田女子短期大学

1982年4月30日受付

回めの抽出操作と同様に行なわれた。このようにして得られた抽出液をカラムにかけた。

### 3 陰イオン交換カラムクロマトグラフィー

用いた陰イオン交換樹脂は Dowex 1×8 で、HCOO<sup>-</sup> 型、200~400メッシュ、カラムサイズ 1.2×10cm の条件で行った。抽出された試料溶液はカラムに通し非吸着部について塩基、ヌクレオシドの同定、定量を行った。又非吸着部について PPC, TLC, ろ紙電気泳動を行って調べたところ UV吸収を示す大きな spot が検出されたのでこのものを単離する目的で Dowex 1×8, Cl<sup>-</sup> 型、200~400メッシュ、カラムサイズ 1.5×91cm でクロマトグラフィーを行った。単離操作は Fig. 1, 2 に示した。

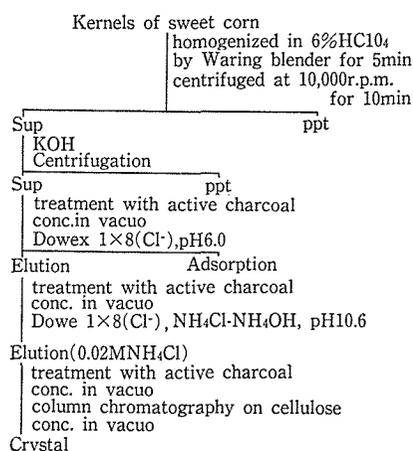


Fig. 1. Isolation procedure of nucleosides from sweet corn kernels.

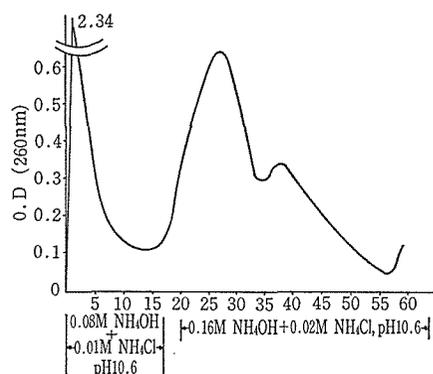


Fig. 2. Column chromatography of bases and nucleosides  
Resin; Dowex 1×8, 200-400 mesh, Cl<sup>-</sup> type  
Column; 1.2×16 cm, Fraction; 20 ml

### 4 塩基及びヌクレオシドの同定

ペーパークロマトグラフィー (PPC) は東洋ろ紙 No. 51A, 展開溶媒: 1N アンモニア水で pH 10 にしたもの<sup>5)</sup>, メタノール-濃塩酸-水 (70:20:10)<sup>6)</sup>, n-ブタノール-水 (86:14)<sup>7)</sup>, 上昇法, 室温で行った。spot の検出は UV ランプ照射により, 蛍光を発する部分を切りとり水で抽出後 pH 2.0, 7.0, 10.0 で HITACHI 124 spectrophotometer でスペクトルを測定した。量的に最も多い成分については単離し IR, NMR 及び無水酢酸, ピリジンでアセチル化後 IR, NMR を測定した。又塩基, ヌクレオシドは次式によって求めた。 $A = (A_{260} - A_{310}) \times (\text{ろ紙から抽出した全量, ml})$ 。但し, A; 吸光度。

### 5 試薬

標品アデニン, アデノシン, ウリジンは與人製, 活性炭は半井化学薬品製カラムクロマト用特製試薬を酸, アルカリで充分洗滌し微粒子を除いたものを用いた。

### 実験結果及び考察

図1, 2に示す方法によってスイートコーン種子から単離された主成分の TLC, UV, IR, NMR の結果と標品ウリジンの測定結果とがよく一致し, この成分はウリジンと同定された。アデニン, アデノシンについては PPC, TLC, ろ紙電気泳動の結果から標品のそれらと一致し同定された。10日めから30日めまでのすべてのスイートコーン種子の  $\text{HClO}_4$  抽出試料からアデニンとそれに対応するアデノシンが検出され, ウリジンは単離, 同定されたがウラシル, シトリシン, グアニンとそれに対応するシチジン, グアノシンは検出されなかった。著者らは, 別の実験でスイートコーン種子のヌクレオチドを分析した結果<sup>9)</sup>から, アデノシンーリン酸 (AMP), アデノシン二リン酸 (ADP), アデノシン二リン酸グルコース (ADPG), アデノシン三リン酸 (ATP), ウリジンーリン酸 (UMP), ウリジン二リン酸 (UDP), ウリジン二リン酸グルコース (UDPG), ウリジン三リン酸 (UTP) の存在を確認している。これらヌクレオチド及び糖ヌクレオチドはアデニン, ウラシルを塩基とし, アデノシン, ウリジンをヌクレオシドとするものであり, スイートコーン種子からウラシルが検出されなかったものの後述するようにこれら塩基, ヌクレオシドがヌクレオチド生合成の前駆体となっている可能性を示唆するものである。GRZELCZAK ら<sup>9)</sup>がコムギの発芽過程における塩基, ヌクレオシドの消長を調べた結果によればアデニン, グアニン, ウラシル及びアデノシン, グアノシン, ウリジンが存在すると報告し, 又村上<sup>10)</sup>はコムギ登熟期における酸可溶性ヌクレオチドを分析し, ADP, ATP, GMP, UMP, UDP, UTP, UDPG, CMP を, イネ<sup>11)</sup>については AMP, ADPG, UMP, UDP, UDPG, UTP を検出している。これらの結果を比較してみるとスイートコーンのヌクレオチド組成はコムギよりもイネに類似しているといえよう。

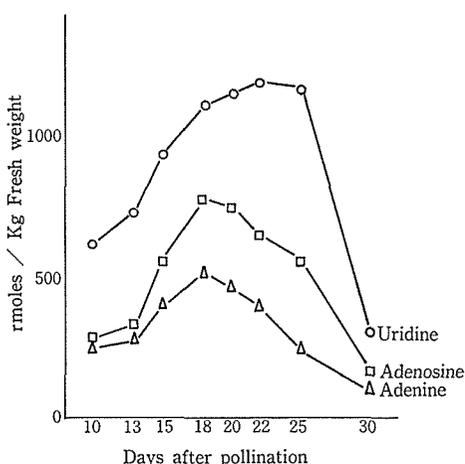


Fig. 3. Quantitative changes of bases and nucleosides in kernels of sweet corn during ripening.

グリコーゲンを貯蔵多糖の主成分とするスイートコーンには植物界ではまれな例であるが他の植物種子と異なる塩基, ヌクレオシドは検出されなかった。Fig. 3 から明らかなように種子中のアデニン, アデノシン含量は絹糸抽出後10日めから徐々に増加し, 18日めにピークに達し成熟が進むに従って減少している。それに反してウリジンは22日めにピークに達し以後減少している。これらの結果とグリコーゲンの消長<sup>12)</sup>との関係を見るとこの成育段階 (絹糸抽出後18日) では, グリコーゲン蓄積の速度が最大に達する時期であり生理的に最も活性が高い stage といえるようでヌクレオチドのレベルの最も高い時期である。WASILEWSKA ら<sup>13)</sup>が証明しているように高等植物においても塩基,

ヌクレオシドはリボシル化, リン酸化, 異性化の反応によってヌクレオチド, ヌクレオチドへと生合成され, 種子内のエネルギーレベルを高めグリコーゲンを中心とするその他生体成

分の生合成に利用されるという結論を間接的に支持するであろう。

### 要 約

スイートコーンの成熟過程における塩基、ヌクレオシド含量を調べて次のような結果が得られた。コーン種子中にアデニン、アデノシン、ウリジンの存在が確認された。これら塩基、ヌクレオシドのうち、絹糸抽出後10~30日までの全成熟過程を通じてウリジン含量が最も高かった。アデニンとアデノシン含量は絹糸抽出後18日めまで増加しピークに達し以後30日めまで減少した。ウリジン含量はアデニン、アデノシンとやや異った増加傾向を示し10日めから22日めまで増加しピークに達し以後30日めまで減少した。これら塩基、ヌクレオシド含量がピークに達する stage はグリコーゲン蓄積速度が最大となりヌクレオチドレベルも最も高くなる。これらの結果から考えて塩基やヌクレオシドはヌクレオチド生合成の前駆体となっているのではないかと思われた。

終りに臨み、本研究に際し種々ご便宜、ご指導を賜わった黒沢辰一先生、寄藤高光先生に深く感謝します。

なお、本研究の要旨は昭和50年度日本農芸化学会大会（札幌）において発表した。

### 引 用 文 献

- 1) C. E. CARDINI, A. C. PALADINI, R. CAPUTTO, L. F. LEOIR: *Nature*, 165, 191 (1950).
- 2) REICHARD P: *Adv. Enzymol.*, 21, 263 (1959).
- 3) REIFER I., BUCHOWICZ J., TOCZKO K: *Acta Biochim. Polon.*, 7, 29 (1960).
- 4) BUSCH, H., R. B. HURLBERT, V. R. POTTER: *J. Biol. Chem.*, 196, 717 (1952).
- 5) CHAGAFF, DAVIDSON: "The Nucleic Acid", 1, 252 (1955).
- 6) KIRBY, K. S: *Biochim et Biophys. Acta*, 18, 575 (1955).
- 7) MARKHAM, R., SMITH, J. D: *Biochem. J.*, 45, 294 (1949).
- 8) 建石耕一, 飯島隆志: 昭和51年度日本農芸化学会講演要旨集, p.455 (1976).
- 9) Z. GRZELCZAK, J. BUCHOWICZ: *Phytochemistry*, 14, 329 (1975).
- 10) 村上 高: 日作紀, 39, 409 (1970).
- 11) ———: ———, 39, 287 (1970).
- 12) 建石耕一: 昭和48年日本農芸化学会第58回支部例会シンポジウム, p.4 (1973).
- 13) L. D. WASILEWSKA, I. REIFER: *Acta Biochim. Polon.*, XIV, 1, 41 (1967).

**Acid Soluble Bases and Nucleosides in Sweet Corn  
(*Zea Mays* L. *Saccharata*) Kernels of Various  
Ripening Stages**

**Koichi TATEISHI, Hisao SHIBATA, and \*Takashi IJIMA**

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture,  
University of Shinshu. \*Iida Junior College.

**Summary**

Acid soluble nucleosides and bases in sweet corn kernels harvested at different growth stages were extracted, separated, and quantitatively determined. Only adenine, adenosine, and uridine were detected. A large amount of uridine was present in kernels of all growth stages. On ripening, the contents of these compounds changed with a regular pattern. The amounts of adenine and adenosine increased at 10-18 days, and decreased toward 30 days after silking. The amounts of uridine increased from 10 to 22 days after silking. The relationship between these results and the mechanism of ripening of corn kernels was discussed.