

# 木材成分とペルオキシダーゼの相互作用に関する研究

環境資源学専攻 森林資源科学講座 森林化学 古川 貴大

## 1. はじめに

木化におけるヘミセルロースの機能が、種々提案されている。私の卒業論文では、木化過程を模倣した木材細胞壁モデルを作製してヘミセルロースの機能解明を試みた結果、キシラン (XY) がグルコマンナン (GM) に比べ、リグニン形成量を増加させることを明らかにした。一方、キシランおよびグルコマンナンとモノリグノールとの親和性が同等であったという以前の報告を考慮すると、これらヘミセルロースのリグニン形成に及ぼす機能の差は、ヘミセルロースとリグニン重合酵素との親和性に起因しているとの仮説に至った。本研究では、セルロースとヘミセルロースから成る多糖類マトリックスと西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) との親和性を、分子間相互作用解析装置 QCM を用いて検討し、仮説の検証を試みた。

## 2. 方法

セルロースが予めコーティングされたセンサーを、QCM 測定に用いた。このセンサーに、XY または GM の水溶液 (濃度 1 mg/mL) を流速 50  $\mu$ L/min で 24 時間流入した。その後、Milli-Q 水を 12 時間流入した。続いて 0.01 M リン酸緩衝生理食塩水 (PBS: pH 6.1, NaCl 0.8 w/v%, KCl 0.02 w/v%) を 3 時間流し、HRP の PBS 溶液 (濃度 0.1 mg/mL) を 24 時間送液した。この操作は、チャンバー温度 25°C で行い、物質の吸脱着量は基本周波数 5 MHz の奇数 (1 ~ 13) 倍音に対する周波数変化として測定した。また、GM 後に、XY を流入したセンサーも調製し、HRP の吸着量を求めた。

## 3. 結果と考察

多糖類と HRP との相互作用について、検討した。図 1 に、7 倍音に対して収集された QCM プロファイルを示す。この図は、セルロースに種々のヘミセルロースを吸着させ、未吸着成分を除去した時点の周波数を原点とし、HRP 流入後の周波数変化を継時的に表したものである。物質の吸着により水晶の共振周波数が減少するので、縦軸の  $\Delta F$  が減少する。いずれのプロファイルにおいても、HRP の流入直後から  $\Delta F$  が減少しており、HRP がセンサーに吸着することは明確である。4 つのプロファイルと比較すると、HRP のセルロースへの吸着が顕著であり、24 時間流入し続けても飽和状態には達せず、吸着量も他のプロファイルの 2 倍以上を示している。一方、ヘミセルロースが存在すると、HRP の吸着が数時間で飽和に達し、その量も著しく少なく、XY の方が GM よりその傾向が顕著である。また、いずれのプロファイルにおいても、吸着した HRP が、PBS 洗浄では遊離せず、水洗浄で一部遊離したことが興味深く、塩析的な効果で多糖と HRP は相互作用していると思われる。

以上の結果から、GM が存在するとリグニン量が低下したことは、GM と HRP との相互作用に因るものでなく、GM がセルロースを覆い、セルロースと HRP の結合を阻害したことに起因すると考えられる。

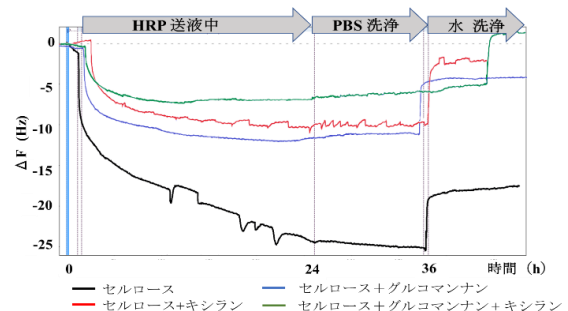


図 1 HRP 吸着時の周波数変化