

## 陸棲ラン藻 *Nostoc commune* (イシクラゲ) の細胞外多糖類分解酵素

0305040906 葛葉 聡美

陸棲ラン藻 *Nostoc commune* (イシクラゲ) は世界中の熱帯から極地まで分布しており、数珠状に連なった細胞がゼリー状の細胞外多糖類に包まれ、目に見える大きさのコロニーを形成している。陸上に環境適応して生息しているため、非常に強い乾燥ストレス、UV ストレス、強光ストレスなどに曝されている。これまでに *N. commune* を長時間水にさらすとコロニーが溶解することが観察されていたが、詳細な解析はなされていなかった。そこで本研究では、コロニーが溶解するという現象に着目し、細胞外多糖類分解酵素について調べた。

野外のコンクリートや芝の上からコロニーを採取して、実験室にて泥や葉などを取り除くために洗い、室温で風乾させたものを実験材料として用いた。乾燥した試料をビーカー内で緩衝液に浸して水和し、室温でスターラーを用いて連続的にかき混ぜる処理を与えた。処理日数ごとにコロニーが溶解する過程を観察し、さらに顕微鏡を用いて細胞の様子を観察した。生理活性の変化を調べるため、光合成活性と呼吸活性をクラーク型酸素電極を用いて測定した。細胞外多糖類が酵素により加水分解されると考え、糖にニトロフェノールが結合した人工基質が加水分解されることを示標とし、遊離されてくるニトロフェノールを比色定量することにより細胞外多糖類分解酵素の活性を測定した。また、分解活性が熱により失活するかどうかを調べるために 100℃で 20 分間処理し、残存している活性を測定した。

緩衝液に浸した実験開始直後からコロニーは急速に吸水を始め、およそ 1 日後では完全に水和してコロニーの輪郭部分から溶解し、3 日目にはコロニーの約半分以上が溶解し、上澄みは濃い緑色を呈していた。溶解液中の細胞を観察すると、水和後 2 時間で糸状体の細胞が見られるようになり、1~3 日の間で糸状体の長さはほぼ半分以下に短くなるものの、細胞の形態などに大きな変化は見られなかった。乾重量あたりのクロロフィル量は実験開始直後と 3 日後では大きな変化は見られなかった。溶解液中の光合成活性および呼吸活性は処理日数ごとに活性が上昇し、コロニーが溶解するにつれて生理活性を持った細胞が緩衝液中に遊離してくることが示された。これらのことはコロニーが緩衝液に長時間さらされても細胞には大きな変化はなく、細胞外多糖類が分解することを示している。本研究で用いた 5 種類の人工基質すべてについて加水分解活性が見られ、処理日数ごとに溶解液に含まれている活性が上昇した。この結果は、*N. commune* は細胞外多糖類を加水分解する酵素を持っていることを強く示唆している。細胞外多糖類を加水分解する酵素には性質の異なるものが複数あると考えられる。加熱処理を行っても、 $\beta$ -グリコシド結合を加水分解する活性が見られることから、耐熱性を示す酵素があることが明らかとなった。