平成25年度 京都大学化学研究所 スーパーコンピュータシステム 利用報告書

植物種子タンパク質の構造と機能 Structure and function of plant seed proteins

京都大学大学院農学研究科品質設計開発学分野 丸山 伸之

背景と目的

食物アレルギーの症状を示す人の数は増加しているにもかかわらず、アレルギー症状を引き起 こす機構については不明な点が多い。植物由来の食品素材に対してアレルギー症状を示すことは 多く、種子類(小麦、落花生、大豆など)と果物類が原因食物の上位を占める。果物類に関する アレルギー症状は、花粉による感作後の交差反応による口腔アレルギー症候群として発症する場 合が多いが、場合によっては重篤な症状を示す場合がある。報告されている果物類に対するアレ ルゲンの多くは、防御タンパク質、プロフィリン、非特異的脂質輸送タンパク質である。一方、 種子類に関するアレルゲンでは、種子貯蔵タンパク質が多くを占めている。種子貯蔵タンパク質 に関連するアレルゲンの多くは、cupinおよびprolaminの2つの superfamily に属している。Cupin superfamily は germin という安定性の高いタンパク質のモチーフをもとに見出された superfamily であり、多様な機能をもつタンパク質が属している。豆類の主要なアレルゲンであ る 7S および 11S グロブリンは、ともに cupin superfamily に属し、加工特性を担う重要なタンパ ク質である。7S グロブリンは分子量が5万から7万のサブユニットからなる3量体構造をもち、 分子量は 15 万~20 万であり、11S グロブリンは分子量が 5 万ほどのサブユニットからなる 6 量体 構造をもち、分子量は約30万である。7Sグロブリンと11Sグロブリンの立体構造はいずれも1 つのサブユニット中にジェリーロール構造と呼ばれるβ-バレル構造を2個もち、そのサブユニッ ト内に擬似 2 回軸をもっている。 β-バレル構造を中心にもつコア部分の構造の 7S および 11S グ ロブリン間の類似性は高く、3個のサブユニットからなる3量体構造についても良く保存されて いる。一方、prolamin superfamily には 2S アルブミン、トリプシンインヒビター、脂質結合タ ンパク質などが含まれる。2S アルブミンは、ラージサブユニットとスモールサブユニットにより 形成される。 落花生において 2S アルブミンは主要なアレルゲンであり、 そのアレルゲン性には安 定なタンパク質構造が寄与していると考えられている。一方、ゴマにおいても 2S アルブミンはア レルゲンとされているが、その重要性については明確になっていない。

検討内容

ゴマに対するアレルギー患者血清を用いてゴマ種子タンパク質に対する特異的 IgE 値を解析した。 脱脂したゴマ種子からタンパク質を抽出し、クロマトグラフィーにより 11S グロブリン、7S グロブリン、2S アルブミンを精製した。それらに対して特異的 IgE 値を測定したところ、すべての種子貯蔵タンパク質に対して高い抗体値を示すことが明らかとなった。さらに、2S アルブミンには 2 つの分子種が存在しているために、それらのアレルゲン性について比較したところ、両者に対する特異的 IgE 値が大きく異なることを見出した。現在、タンパク質解析用ソフトウェア

Discovery Studio を用いて 2S アルブミンには 2 つの分子種の構造安定性について解析を進め、アレルゲン性の違いの原因について検討している。

参考論文

- 1) Carrazco-Peña L, Osuna-Castro J, De Leon Rodriguez A, <u>Maruyama N</u>, Toro-Vazquez J, Morales-Rueda J, Barba De La Rosa AP
 - Modification of solubility and heat induced gelation of amaranth 11S globulin by protein engineering.
 - Journal of Agricultural and Food Chemistry (2013) 61, 3509-3516.
- 2) Shutov AD, Rudakova AS, Rudakov SV, Kakhovskaya IA, Schallau AA, Wilson KA, $\underline{\text{\tt Maruyama}}$ $\underline{\textbf{\tt N}}$
 - Degradation of $\beta\text{--conglycinin}$ $\beta\text{--homotrimer}$ by papain: independent occurrence of limited and extensive proteolysis
 - Biosci. Biotechnol. Biochem. (2013) 77, 2082-2086.
- 3) Prak K, Mikami B, Itoh T, Fukuda T, <u>Maruyama N,</u> Utsumi S
 - Purification, crystallization and preliminary crystallographic analysis of the soybean mature glycinin A1bB2
 - Acta Crystallo. Sect. F Struct Biol Cryst Commun (2013) 69, 937-41.