

氏名	丸山伸之
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	農博第1104号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科食品工学専攻
学位論文題目	Molecular Food Studies on Soy and Wheat Proteins (ダイズおよびコムギタンパク質に関する分子食品学的研究)

論文調査委員 (主査) 教授 内海 成 教授 森 友彦 教授 北畠直文

論文内容の要旨

ダイズタンパク質は植物性タンパク質の中でも、優れた栄養性や加工特性を備えている。さらに、血清コレステロール値低下能などの生理機能性を持つことが確認されており、近年、その用途の拡大が望まれている。このためには、構造と加工特性との相関を分子レベルで解明する必要がある。一方、食物アレルギー患者の数が世界的に増加しており、アレルギー反応を誘発する食物の低アレルゲン化が社会的ニーズとなっている。世界で最も多く栽培されている作物であるコムギは、主要なアレルギー食物の一つであり、その低アレルゲン化のためにアレルギー原因タンパク質の分子種の同定が望まれる。しかし、ダイズタンパク質にはサブユニット組成の、コムギタンパク質には一次構造の多型性があることが、そのような研究の制限因子となっている。本論文では、ダイズおよびコムギタンパク質の大腸菌発現系を構築することによって均一タンパク質の調製系を確立し、分子レベルでの解析を行った。まず、ダイズタンパク質の主要成分である β -コングリシニンの構造・加工特性相関を明らかにするとともに、その立体構造を解明した。また、コムギの主要アレルゲン分子種を同定した。その内容の主な点は以下の通りである。

第一章では、 β -コングリシニンの各構成サブユニット(α , α' , β)および α , α' サブユニットのN末端に存在するエクステンション領域を除いたコア領域のみ(3種類のサブユニット間で相同性の高い領域)について大腸菌大量発現系を構築した。そして、組み換え型タンパク質が天然のタンパク質と同様の構造形成能を持つことを確認した。このことは、構築した大腸菌発現系が β -コングリシニンの構造・加工特性相関の分子レベルでの解析、およびX線構造解析に必要な良質の結晶の調製に適していることを示している。

第二章では、種々のpHおよびイオン強度下で、各組み換え型タンパク質の構造・加工特性相関を分子レベルで解析した。すべての条件下において、熱安定性や表面疎水性などの構造的特徴はサブユニット間で異なっており、それらはコア領域の特性によって決定されていることを明らかにした。そして、加熱会合性、乳化性および低イオン強度下での溶解性にはコア領域の特性だけでなく、エクステンション領域も大きく関与していることを見出した。

第三章では、分子レベルでの解析をより詳細に行う基盤を確立するために、組み換え型タンパク質の結晶化を行った。良質の結晶が得られた β サブユニットのX線結晶構造解析を行い、立体構造を決定した。そして、その構造に基づいて α , α' サブユニットのコア領域の分子モデリングを行い、各サブユニットの加工特性を決定する構造的要因の解明に道筋をつけた。

第四章では、コムギタンパク質のアレルゲン分子種を特定した。まず、グルテニン画分、グリアジン画分、塩可溶性画分の順にコムギアレルギー患者(10人)血情との反応性が高いことを明らかにした。さらに、主要アレルゲン分子種を同定するため、グルテニン画分とグリアジン画分の主要構成タンパク質である α -、 γ -、 ω -グリアジンおよび高分子量、低分子量グルテニンの大腸菌発現系を構築し、各組み換え型タンパク質と患者血情との反応性を比較した。その結果、QQQPP配列を多く含む低分子量グルテニンが第一の、そして α -、 γ -グリアジンがそれに次ぐアレルゲンであることを見出した。このことは、

コムギタンパク質の低アレルゲン化法を開発するための基盤となるものである。

論文審査の結果の要旨

食源性疾患の増大と食糧不足に対処するために、コレステロールに起因する疾患の心配がなく、しかも安価な植物性タンパク質の用途の拡大が望まれる。一方、植物性タンパク質、特に穀類タンパク質による食物アレルギーは、それらが日常、多量に摂取されるものが多いため、低アレルゲン化が強く望まれる。これらのためには、植物性タンパク質の構造と加工特性との相関の分子レベルでの解明とアレルゲン分子種の同定が必要である。しかし、植物性タンパク質には多型性があり、これらの研究の制限因子となっている。本論文は、大腸菌発現系を構築して多型性の影響を排除し、ダイズタンパク質の主要成分である β -コングリシニンの構造・加工特性相関と立体構造の解明、およびコムギのアレルゲンの同定を分子レベルで行ったものである。評価される主な点は以下の通りである。

1. ダイズ β -コングリシニンの3種類の各サブユニットおよびそのコア領域に対する大腸菌発現系を構築するとともに、この発現系を構造・加工特性相関の解明やX線結晶構造解析に必要な良質の結晶の調製に利用できることをタンパク質化学的に確認した。

2. ダイズ β -コングリシニンの構造・加工特性相関を分子レベルで明らかにした。すなわち、熱安定性や表面疎水性などの構造的特徴はサブユニット間で異なっており、それらは各サブユニットのコア領域によって決定されていること、そして、溶解性、加熱会合性および乳化性にはコア領域の特性に加えてエクステンション領域も大きく寄与していることを示した。この結果、様々な環境条件(pHやイオン強度)での各サブユニットの加工特性が明確になり、様々なサブユニット組成を持つダイズ品種の用途に対する指針を与えた。

3. X線結晶構造解析により β サブユニットの立体構造を決定し、その構造に基づいて α と α' サブユニットのコア領域の分子モデリングを行った。これは、各サブユニットの加工特性を決定する構造的要因を詳細に解明することを可能にするとともに、高品質なダイズタンパク質を理論的に分子設計するための基盤となるものである。

4. コムギのアレルゲンタンパク質は、主にグルテニン画分およびグリアジン画分に存在することを示した。さらに、主要グルテニンおよびグリアジン成分の大腸菌発現系を構築し、アレルゲン分子種の同定を試みた。その結果、QQQPP配列を多く含む低分子量グルテニンが第一の、そして α -、 γ -グリアジンがそれに次ぐアレルゲンであることを見出した。これは、低アレルゲン化コムギを開発するうえでの指針を与えるものである。

以上のように、本論文は、大腸菌発現系を構築することによって、ダイズおよびコムギタンパク質を分子食品学的に解析し、それらの食品素材としての用途の拡大のための基盤を確立したものであり、新食糧設計学、食糧資源学、品質設計開発学などに寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成12年2月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。