

氏名 田中朋之  
 学位(専攻分野) 博士 (農学)  
 学位記番号 論農博第2263号  
 学位授与の日付 平成11年9月24日  
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当  
 学位論文題目 Studies on Novel Crops Producing Soybean Glycinins with Improved Food Qualities  
 (食品機能を改質したダイズグリシニンを産生する作物に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 内海 成 教授 堀江 武 教授 森 友彦

### 論文内容の要旨

ダイズタンパク質の主要成分であるグリシニンは、植物性タンパク質の中で優れた食品加工特性(加熱ゲル化性や乳化性)および栄養性を備えているが、動物性タンパク質と比較すると見劣りがする。しかし、ヒトの血清コレステロール値を低下させるという健康維持増進性を持っている。したがって、食品素材として理想的な特性を合わせ持つ植物性タンパク質を遺伝子工学的に創製する上で、グリシニンは特に有望な改質材料の一つである。また、改質されたグリシニンを作物において発現・蓄積させることができれば、その作物への新たな食品機能の付与またはその作物の食品機能の改善が可能であると考えられる。本論文では、まず、グリシニンが構造形成能を失うことなく許容しうる改造の種類と程度(改造許容性)を明らかにし、優れた食品機能を持つグリシニンを設計・作出した。そして、そのような改質型グリシニンのモデル植物(タバコ)における発現・蓄積挙動を解析した。さらに、その成果に基づいて、食品機能の優れた高付加価値作物(ジャガイモ、イネ)を開発する基盤を確立した。その内容の主な点は以下の通りである。

第1章では、異種タンパク質を簡便かつ迅速に調製できる微生物発現系(大腸菌および酵母)を用いて、3通りの観点からグリシニンの改造許容性を明らかにした。すなわち第1節では、本研究に先立って確認されていた、構造形成を妨げることなく食品機能を改質する方法を組み合わせた改造によっても構造形成上の不都合はないことを明らかにした。これにより、高度な食品機能を持つグリシニンの容易な設計を可能にした。第2節では、可変領域の中でも特に保存性の低い超可変領域がどの程度の改造を許容するのかを解析した。その結果、この超可変領域に存在するポリグルタミン酸配列の欠失、ポリグルタミン、ポリリシン、ポリメチオニンへの置換がそれぞれ許容されることを明らかにした。これにより、酸性領域において食品加工特性の発現が低下する原因と考えられる等電点を変えうることを示した。第3節では、植物細胞と同様の糖鎖付加機構を持つ酵母の発現系を用いて、単純タンパク質であるグリシニンに対する糖鎖付加が許容されることを示した。そして、糖鎖の付加はグリシニンの加熱凝集を防ぐ効果を示すことを明らかにした。

第2章では、大腸菌発現系では解析できないグリシニンの成熟型へのプロセッシング、6量体への分子集合、液胞へのソーティングを、形質転換および個体再生が高等植物の中で比較的容易なタバコを用いて解析した。そして、改質型および天然型グリシニンが、ダイズにおけるのと同様に正しく発現・蓄積でき、蓄積レベルにも差はないことを確認した。

第3章では、前2章の結果を踏まえて、改質型および天然型グリシニンの遺伝子の主要作物における発現・蓄積挙動を比較・解析した。まず第1節では、ジャガイモ塊茎タンパク質であるパタチンの遺伝子のプロモーターを利用して、両型のグリシニンをジャガイモ塊茎で全可溶性タンパク質当たり0.2-1%のレベルで蓄積させた。そして、両型とも3量体のプログリシニンとして液胞に蓄積することを明らかにした。第2節では、コメの主要貯蔵タンパク質であるグルテリンの遺伝子のプロモーターを利用して、両型のグリシニンをコメで全タンパク質当たり5%のレベルで蓄積させた。そして、両型とも6量体あるいは3量体の成熟グリシニンとしてプロテインボディ-Ⅱに蓄積することを明らかにした。また、グリシニンとグルテリンとのハイブリッドタンパク質も蓄積することを見出した。以上のように、食品機能の優れた改質型グリシニンを産

生するジャガイモおよびイネの開発基盤を確立した。

### 論文審査の結果の要旨

近年、遺伝子組換え作物が商品化され、急速にその利用が拡大している。しかしながら、市場に流通している組換え作物の多くは、病害虫や農薬に対する耐性等の栽培上の利便性を付与したものであり、消費者に直接利益をもたらす形質を付与したものはほとんどない。本論文は、ダイズタンパク質の主要成分であるグリシニンに関して食品機能改質のための改造許容性を明らかにするとともに、高等植物（タバコ、ジャガイモ、イネ）における改質型グリシニンの発現・蓄積挙動を天然型のものと比較・解析することによって、優れた食品機能を示す高付加価値作物の開発の基盤を確立したものであり、評価される主な点は以下の通りである。

1. グリシニンの食品機能を高度に改質するために、その改造許容性を3通りの観点から明らかにした。すなわち、微生物発現系を用いた独自の判定基準により、改造の組み合わせ、超可変領域にあるポリグルタミン酸配列の欠失・置換、および糖鎖付加という改造が、グリシニン本来の構造形成を妨げないことを明らかにした。そして、それぞれの改造がグリシニンの食品機能の改質に有効な手法であることを示した。

2. 形質転換および個体再生が比較的容易なタバコを用いて、微生物発現系では確認できないグリシニンの生合成から蓄積に至る一連のプロセスを解析し、改質型グリシニンが天然型グリシニンと同様に、異種高等植物において正しく発現・蓄積できることを示した。

3. 改質型および天然型グリシニンを塊茎全可溶性タンパク質当たり0.2-1%のレベルで蓄積するジャガイモを作出した。両型とも液胞にソーティングされ、3量体のプログリシニンとして蓄積することを明らかにした。これにより、改質型グリシニンを産生するジャガイモの開発が可能となった。

4. 改質型および天然型グリシニンを種子全タンパク質当たり5%のレベルで蓄積するイネを作出した。両型とも液胞にソーティングされ、成熟型へのプロセッシングを受けて6量体に分子集合しうることを明らかにした。また、グリシニンとグルテリンが特異的に相互作用することによるハイブリッドタンパク質も蓄積することを示した。これにより、改質型グリシニンを産生するイネの開発が可能となった。

以上のように、本論文は、ダイズグリシニンの改造許容性に関する基礎的研究を踏まえた上で、優れた食品機能を示す改質型グリシニンを産生する高付加価値作物の開発の基盤を確立したものであり、新食糧設計学、食糧資源学、分子作物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11年7月8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。