

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	木村愛子
論文題目	Analysis of Structural Factors Contributing to Physicochemical Properties of Seed Storage Proteins （種子貯蔵タンパク質の特性に寄与する構造要因の解析）		
（論文内容の要旨）			
食源性疾患の増大や食糧の不足などの諸問題を解決する方策を確立することが望まれている。その一つとして、生理機能性をもちながら利用度の低い食糧資源を、高度に利用するための基盤を構築することが求められている。多くの植物種子は7Sグロブリン及び11Sグロブリン（7S及び11S）を主要な貯蔵タンパク質として含有している。ダイズの種子貯蔵タンパク質は加工特性が非常に優れているため、様々な加工食品の原料に利用されている。一方、インゲンマメ、エンドウマメ、ソラマメなどの種子貯蔵タンパク質はダイズの貯蔵タンパク質と比較して、アミノ酸配列上の相同性は30-70%であり、より優れた特性をもつものが存在する可能性があるものの、加工食品の原料としての利用はほとんどされていない。また、11Sは種子中で限定分解を受けることによりプロ型（三量体）から成熟型（六量体）へと構造変化を起こす。このような構造変換を制御することにより、新しい特性をもつ種子貯蔵タンパク質を開発し、利用することが可能になると考えられる。 以上のような観点から、様々な植物種の種子貯蔵タンパク質の特性比較を行うことにより優れた特性をもつものを見出し、その優れた特性に寄与する構造要因の解析を行った。また、11Sのプロ型と成熟型との特性の違いに寄与する構造要因について解明を試みた。			
1. 種々の植物種の種子貯蔵タンパク質の特性比較			
ソラマメ、エンドウマメ、インゲンマメ、ササゲの 7S と、エンドウマメ、ソラマメの 11S の熱安定性、表面疎水性、溶解性及び乳化性をダイズのものと比較した。熱安定性及び表面疎水性は、7S 及び 11S とともに植物種間で異なっていた。溶解性については、インゲンマメ 7S のみが低イオン強度下においても測定した総ての pH 範囲で可溶性であった。また、インゲンマメ 7S はダイズ 7S と同様に良好な乳化性を示すとともに、ダイズ 7S よりも優れた乳化安定性を示した。以上のことから、インゲンマメ 7S が優れた溶解性、乳化性、乳化安定性をもつことが明らかとなった。			
2. インゲンマメ 7S の優れた特性に寄与する構造要因の解析			
インゲンマメ7Sのもつ優れた特性に寄与する構造要因を明らかにすることを試みた。まず、糖鎖の寄与について詳細に検証した。大腸菌発現系を構築することによって、糖鎖をもたないインゲンマメ7S（R7S）、種子から調製した2か所に糖鎖をもつインゲンマメ7S（N7S）、N7SをエンドグリコシダーゼHで処理した1か所のみ			

糖鎖をもつE7Sの特性と比較した。R7SはN7Sに比べて、乳化性、乳化安定性及び低イオン強度下における溶解性は著しく劣っていた。一方、E7SとN7Sを比較すると、溶解性、乳化性、乳化安定性に顕著な差はみられなかった。また、R7Sの溶解性及び乳化性は組み換え型ダイズ7Sのβサブユニットの特性よりも優れていた。

以上の結果から糖鎖がインゲンマメ7Sの優れた特性を示すための主要因となっており、1本の糖鎖が付加されていれば優れた特性を示すこと、溶解性及び乳化性にはインゲンマメ7Sのポリペプチド鎖部分の性質も寄与することが明らかとなった。

3. 11Sプロ型・成熟型の特性比較と特性の違いに寄与する構造要因の解析

11Sのプロ型と成熟型との特性の違いに寄与する構造要因について解析を行った。まず、エンドウマメ11S、カボチャ11S、ダイズ11S（A3B4サブユニット）のプロ型と成熟型の熱安定性を比較したところ、すべての植物種においてプロ型よりも成熟型の方が高い熱安定性を示すことが明らかとなった。既に立体構造が決定されているダイズA3B4サブユニット成熟型のモデルを鋳型としてエンドウマメ11S及びカボチャ11Sの成熟型モデルを作製し、構造比較したところ、ダイズ11SのA3B4サブユニットにおいて六量体形成時に新たに形成される3つの塩橋のうちLys113-Asp342に相同するものがエンドウマメ11S及びカボチャ11Sの六量体でも保存されていることが示唆された。また、ダイズA3B4サブユニットと同様に、エンドウマメ11Sやカボチャ11Sにおいても多くの疎水性残基が六量体形成面に存在していると考えられた。これらの構造的要因が11Sのプロ型から成熟型への変換に伴う熱安定性の上昇に寄与することが示唆された。また、超可変領域の長さは植物種により異なるが、カボチャ11Sの超可変領域はエンドウマメ11Sやダイズ11SのA3B4サブユニットよりも短いために、表面疎水性に対する寄与が両者と異なっていると考えられた。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせ

て、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

食源性疾患の増大や食糧の不足などの諸問題を解決する方策を確立することが望まれており、その1つとして種子貯蔵タンパク質の高度利用法の開発が有力視されている。多くの植物種子は7Sグロブリン及び11Sグロブリン(7S及び11S)を主要な貯蔵タンパク質として含有している。本論文では、様々な植物種の7S及び11Sの特性比較を行うことにより優れた特性をもつものを見出し、その優れた特性に寄与する構造要因の解析を行うとともに、11Sのプロ型と成熟型との特性の違いに寄与する構造要因について解析を行った。評価される主な点は以下の通りである。

1. エンドウマメ、ソラマメ、インゲンマメ、ササゲの7Sとエンドウマメ、ソラマメの11Sの熱安定性及び表面疎水性は、7S及び11Sともに植物種間で異なっていることを明らかにした。
2. インゲンマメ 7S が優れた溶解性、乳化性、乳化安定性をもつことを明らかにした。
3. 組み換え型及び天然型インゲンマメ7Sを比較することにより、糖鎖がインゲンマメ7Sの優れた特性を示すための主要因となっており、天然型に存在する2本の糖鎖のうち1本が付加されていれば、優れた特性の発現に十分であることを明らかにした。
4. エンドウマメ11S、カボチャ11S、ダイズ11Sのプロ型と成熟型の熱安定性を比較したところ、すべての植物種においてプロ型よりも成熟型の方が高い熱安定性を示すことを明らかにした。
5. ダイズ11SのA3B4サブユニットの立体構造データをもとに、エンドウマメ11S及びカボチャ11Sの立体構造モデルを構築した。
6. ダイズ11SのA3B4サブユニットの立体構造データとエンドウマメ11S及びカボチャ11Sの立体構造モデルを比較することにより、保存性の高い塩橋や六量体形成面の疎水性などの構造的要因が11Sのプロ型から成熟型への変換に伴う熱安定化の上昇に寄与することを示した。
7. 超可変領域の表面疎水性に対する寄与は、その長さの違いにより大きく異なることを明らかにした。

以上のように、本論文では、様々な植物種の種子貯蔵タンパク質の特性比較を行うことにより、インゲンマメ7Sが優れた溶解性、乳化性、乳化安定性をもつことを見出すとともに、それらの特性に寄与する構造要因を解明した。さらに、既知のダイズ11Sの立体構造を基にしてエンドウマメ11S及びカボチャ11Sの構造モ

デルを作成し、立体構造の比較検討を行うことにより、プロ型から成熟型への構造変化に寄与する構造要因を明らかにした。得られた知見は、種子貯蔵タンパク質の高度利用のための基盤となり得るものであり、品質設計開発学、品質評価学、分子育種学などに寄与するところが多い。

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22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。

注) Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降