

講座 品質科学

2. 1. 7 研究分野：品質設計開発学

構成員：	教授	裏出 令子
	准教授	丸山 伸之
	助教	増田 太郎
	大学院博士後期課程	2名
	大学院修士課程	7名
	専攻4回生	4名
	研究員	4名

A. 研究活動（2010. 4～2011. 3）

A-1. 研究概要

a) ダイズ種子貯蔵タンパク質の立体構造形成機構

高品質化のために遺伝子改変を施した種子貯蔵タンパク質を効率的に生産するためには、その立体構造が迅速に形成されるか、あるいは何らかの方法で小胞体の品質管理による分解を免れる必要がある。このような問題を解決して高品質化タンパク質を高生産するための基盤研究として、ダイズ種子貯蔵タンパク質のジスルフィド結合形成に関わる酵素の構造と活性および基質特異性との関係や他の分子シャペロンとの協調的作用機構を解明し、種子貯蔵タンパク質の構造形成での役割を明らかにする研究を行っている。すなわち、小胞体で新生タンパク質の構造形成とジスルフィド結合形成を行うプロテインジスルフィドイソメラーゼファミリーなどのタンパク質酸化還元酵素を同定し、それらの構造と触媒反応機構、基質特異性および活性調節機構との関係を追求している。

b) ダイズタンパク質の生理機能性に関する研究

ダイズタンパク質のもつ生理機能性のうち特に脂質代謝改善効果について、ヒトの肝臓の培養細胞やラットを用いてその有効成分や分子機構に関する研究を行っている。空腹時中性脂肪値適正化作用を有するダイズ種子貯蔵タンパク質 β -コングリシニンの消化管で分解されて生成する有効ペプチドを同定し、有効ペプチドをたくさん含む改変を種子貯蔵タンパク質に施し生産することを目指す。また、ダイズタンパク質のうち血清コレステロール値低下作用の有効成分を明らかにする研究を行っている。

c) コムギ粉の食品加工特性とコムギ種子貯蔵タンパク質の構造との関係

コムギ粉の食品加工特性は、コムギ粉に含まれる種子貯蔵タンパク質の量と質に依存している。コムギ粉に含まれる主要な種子貯蔵タンパク質のうち、生地抗張性と相関する分子間ジスルフィド結合により重合化したタンパク質グルテニンの、コムギ種子の登熟過程で重合化と食品加工過程での重合度の変化の両面について、プロテインジスルフィドイソメラーゼファミリーなどのタンパク質チオール酸化還元酵素との関係を追及している。また、もう1つの主要タンパク質であるグリアジンは1800年代初頭にアルコール水に溶けるタンパク質として発見され、水に不溶性であるとされてきたが、食塩存在下でタンパク質間相互作用を変化させると、純水に溶けるようになることを発見した。水に溶解したグリアジンを使った新しい食品加工技術の開発を目指して研究を行っている。

d) ダイズ種子貯蔵タンパク質の輸送および集積機構

ダイズ種子貯蔵タンパク質は生合成され高次構造が形成された後、小胞体からタンパク質貯蔵液胞(PSV)へ能動的に輸送され大量に集積する。このような選別輸送を可能にしているのは、種子貯蔵タンパク質のタンパク質貯蔵液胞への輸送シグナル認識機構と、タンパク質自身が持つ分子集合の性質であることが様々な種子貯蔵タンパク質で明らかにされつつある。従って、タンパク質のアミノ酸配列の改変や挿入の結果、輸送シグナルが破壊されたり分子集合の性質が変化すると、高品質化タンパク質が効率的に集積できなくなる。品質設計開発学分野では、ダイズ種子貯蔵タンパク質の輸送シグナル認識機構および分子集合機構の研究を行っている。

e) 新奇な食用作物の開発

優れた食品生理機能性をもつタンパク質を有用作物の可食部に蓄積させることにより、生活習慣病を予防する作物やワクチン成分を蓄積する作物の作出を行っている。また、重イオンビーム照射による種子アレルゲンを欠失したピーナッツの開発を進めている。

f) 種子タンパク質のアレルゲン性決定要因の解析

ピーナッツ、コムギ、ダイズなどに含まれる種子タンパク質はアレルギー症状を引き起こすものがあることが知られている。アレルゲンとして多くのタンパク質が報告されているが、重篤な症状を引き起こすアレルゲンやその要因については明らかになっていない。様々な単一コンポーネントを開発し、重篤な症状を引き起こすアレルゲン因子およびその構造の解明を進めている。

g) 作物における鉄貯蔵蛋白質フェリチンの鉄含有量への寄与

人体では鉄のリサイクル系が確立されており、一般的な成人が一日に必要な鉄の量は1-2 mg程度である。しかし、開発途上国のみならず先進諸国においても鉄欠乏性貧血の罹患者は、若年層の女性を中心に多く存在しており、食餌からの鉄分摂取量の増加は食糧科学に課せられた地球規模での課題と考えられる。食肉など動物由来の蛋白質源は良質な鉄の供給源であるヘム鉄を多く含んでいる半面、植物由来の食品と比較して、生産コストが大幅に高いという欠点がある。他方、ダイズ種子は主要作物の中でとりわけ鉄含有量が高く、その高い鉄含有量には鉄貯蔵蛋白質フェリチンが深くかかわっている。現在、ダイズ種子におけるフェリチン鉄の寄与を調べ、フェリチン鉄の鉄源としての有用性を明らかにする。

h) 鉄貯蔵タンパク質フェリチンの構造・機能解析と異種金属蓄積分子の開発

フェリチンは、高等植物、微生物、哺乳類に至るほぼすべての生物種に存在する鉄貯蔵タンパク質である。通常、相同な24個のサブユニットからなる球状の多量体を形成しており、内部に数千個に及ぶ鉄原子を貯蔵するという極めて特異な性質を有している。2009年度に植物由来のフェリチンとしては初めての例となるダイズフェリチンのX線結晶構造解析による立体構造解析に成功し、フェリチンにおける鉄貯蔵機構を明らかとした。引き続き、鉄に対する特異性の分子基盤と高度な鉄集積を可能とする反応機構の解明を行う。

A-2. 研究業績（国内・国外含む）

a) 成果刊行

著 書

・Urade, R. Fortification of bread with soy proteins to normalize serum cholesterol and triacylglycerol levels. Flour and breads and their fortification in health and disease prevention (ISBN:9780123808868) (V. R. Preedy, R. R. Watson and V. Patel, ed.) pp.417-427 Academic Press

・Maruyama, N., Motoyama, T., Yoshikawa, M., Takaiwa, F., Utsumi, S. Seed storage proteins; Strategies for developing crops promoting human health, Soybean - Applications and Technology (ISBN 978-953-307-207-4) (Tzi-Bun Ng, ed)pp. 243-254, Intech

原著論文（書評論文を含む）

・Akio Koh, Kimio Nishimura, and Reiko Urade. (2010) Relationship between Endogenous Protein Disulfide Isomerase Family Proteins and Glutenin Macropolymer. J. Agric. Food Chem. 58 : 12970-12975 査読有

• Tandang-Silvas, MR, Fukuda, T., Fukuda, C., Prak, K., Cabanos, C., Kimura, A., Itoh, T., Mikami, B., Utsumi, S., Maruyama, N. (2010) Conservation and divergence on plant seed 11S globulins based on crystal structures *Biochim. Biophys. Acta-Proteins and Proteomics* 1804, 1432-1442. 査読有

• Cabanos, C., Tandang-Silvas, MRG., Van, O., Brostedt, P., Tanaka, A., Utsumi, S., Maruyama, N. (2010) Expression, purification, cross-reactivity and homology of peanut profilin
Protein Expression and Purification 73 : 36-45. 査読有

• Motoyama, T., Amari, Y., Tandang-Silvas, MR., Cabanos, C., Kimura, A., Yoshikawa, M., Takaiwa, F., Utsumi, S., Maruyama, N. (2010) Developing transgenic rice with mutated α subunit of soybean beta-conglycinin containing phagocytosis-stimulating peptide. *Peptides*. 31 : 1245-1250. 査読有

• Shutov, AD., Prak, K., Fukuda, T., Rudakov, S.V., Rudakova, A.S., Tandang-Silvas, MR., Fujiwara, K., Mikami, B., Utsumi, S., Maruyama, N. (2010) Soybean basic 7S globulin: Subunit heterogeneity and molecular evolution *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74 : 1631-1634. 査読有

• Tandang-Silvas, M.R., Carrasco-Pena, L., Barba de la Rosa, A.P., Osuna-Castro, J.A., Utsumi, S., Mikami, B., Maruyama, N. (2010) Expression, purification and preliminary crystallization of proamaranth 11S globulin seed storage protein from *Amaranthus hypochondriacus* L. *Acta Crystallogr. Sect. F Struct Biol Cryst Commun* 66 : 919-922. 査読有

• Cabanos C, Urabe H, Masuda T, Tandang-Silvas MR, Utsumi S, Mikami B, Maruyama N.
Crystallization and preliminary X-ray analysis of the major peanut allergen Ara h 1 core region
Acta Crystallogr. Sect. F Struct Biol Cryst Commun (2010) 66, 1071-1073. 査読有

• Masuda, T., Goto, F., Yoshihara, T. & Mikami, B. (2010) The universal mechanism for iron translocation to the ferroxidase site in ferritin, which is mediated by the well conserved transit site. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 400: 94-99 査読有

• Deng, J., Liao, X., Yang, H., Hua, Z., Masuda, T., Goto, F., Yoshihara, T., Zhao, G. (2010) Role of H-1 and H-2 subunits of soybean seed ferritin in oxidative deposition of iron in protein. *J. Biol. Chem.* 285: 32075-32086 査読有

・Masuda, T., Goto, F., Yoshihara, T. & Mikami, B. (2010) Crystal structure of plant ferritin reveals a novel metal binding site that functions as a transit site for metal transfer in ferritin. J. Biol. Chem. 285: 4049-4059 査読有

・Cabanos, C., Urabe, H., Masuda, T., Tandang-Silvas, M.R., Utsumi, S., Mikami, B., Maruyama, N. (2010) Crystallization and preliminary X-ray analysis of the major peanut allergen Ara h 1 core region. Acta Crystallogr. Sect. F 66(Pt 9) 1071-1073 査読有

・Fu, X., Deng, J., Yang, H., Masuda, T., Goto, F., Yoshihara, T. & Zhao, G. (2010) A novel EP-involved pathway for iron release from soybean seed ferritin. Biochem. J. 427: 313-321 査読有

報告書・その他

・裏出令子、河野光登、高純度大豆タンパク質の食品生理機能、不二製油株式会社フードサイエンス研究所栄養健康室

b) 学会発表

・日本農芸化学会 7

・日本生化学会 2

・APOCB Congress 1

・日本育種学会 1

・日本血液学会 1

・日本蛋白質科学会 1

・セラミド研究会 1

A-3. 国内における学会活動など①

所属学会等（役割）

- ・裏出 令子：日本農芸化学会（代議員）

A-3. 国内における学会活動など②

競争的資金等獲得状況

①科学研究費補助金

- ・基盤研究（B）：裏出 令子：臓器特異的ジーンターゲティング法による小胞体E R－60の生理機能に関する研究
- ・若手研究(B)：丸山 伸之：種子タンパク質の貯蔵液胞への選別輸送を決定する新規レセプターの同定
- ・若手研究（B）：増田 太郎：植物フェリチンを基盤とした新規金属蓄積分子の創出
- ・基盤研究（A）：平田 孝：不活性ガスによる甲殻類黒変酵素の選択的不活性化機構の解明と黒変防止技術の開発

②その他の競争的資金

- ・(財)不二たん白質研究振興財団：裏出 令子：高純度ダイズタンパク質の食品生理機能
- ・(独)宇宙航空研究開発機構：裏出 令子：宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成と精密立体構造の解析
- ・受託研究費：農林水産省：丸山 伸之：ダイズ7Sグロブリン等機能性成分含有米の開発
- ・アサヒビール振興財団：丸山 伸之：種子タンパク質の立体構造を基盤とするエピトープ構造の解析

B. 教育活動（2010.4～2011.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目（担当教員）

- ・学部： 資源生物科学概論Ⅰ（裏出）、品質科学（裏出）、品質設計開発学（裏出・丸山）、資源生物科学実験および実験法（丸山・増田）、資源生物科学基礎実験（丸山・増田）
- ・大学院： 品質設計開発学演習（裏出・丸山・増田）、品質設計開発学専攻実験（裏出・丸山・増田）

B-3. 国際的教育活動①

留学生・外国人研修員の受入

- ・留学生： 博士課程 1名（フィリピン）

特記事項：

安藤スポーツ・食文化振興財団2010年度食創会第15回安藤百福賞優秀賞受賞