

## タンパク質化学に基づく穀類子実貯蔵物質の品質に関する研究

田中朋之（京都大学）

穀類の子実に多く含まれるデンプンと貯蔵タンパク質は、脂質と並び、食料において主要な位置を占める。それらの品質は人類の生存、健康維持、および食嗜好や食文化を支える重要な要素である。田中朋之氏は、イネおよび栄養性と嗜好性が優れ世界的にも注目されるソバの高付加価値化を目指して、イネの子実貯蔵タンパク質の栄養性と生理機能性、子実デンプンの蓄積異常がもたらす外観品質変化（白未熟粒化）、およびソバ子実のアレルゲンに関する研究に取り組んできた。主たる研究成果は、以下の通り要約される。

### 1. イネ子実貯蔵タンパク質の栄養性と生理機能性

イネ子実はヒトの必須アミノ酸であるリシンが不足し、玄米でもアミノ酸価は68と低い（四訂食品成分表）。そこで子実全タンパク質の約70%を占める貯蔵タンパク質グルテリンを、その主要なサブユニット（GluA1, GluA2, GluA3, GluB1, GluB2, GluB4）ごとに識別する技術を開発し（業績1, 2, 5, 9）、グルテリンが主としてリシン含量が低いGluAサブファミリーと高いGluBサブファミリーに分けられることを明らかにした。そして、野生イネ（AAゲノム5種、非AAゲノム7種）における遺伝資源を解析して、GluB/GluA比が*Oryza sativa*の0.6に比べ1.8と高い*Oryza meridionalis*（AAゲノム）、2.4と著しく高い*Oryza grandiglumis*（CCDDゲノム）を特定し、種間交雑による遺伝的な改変により、栽培イネ子実の栄養性を改善できる可能性を示した（業績3, 4）。また、GluAとGluBサブファミリーの間で含硫アミノ酸（メチオニン、システイン）含量が異なることに着目し、窒素・硫黄代謝を制御した砂耕栽培/水耕栽培によりグルテリン組成を改変できることを示した（業績6）。さらに、農研機構放射線育種場で育成されたグルテリンサブユニットの幾つかを欠失した突然変異体と、子実全タンパク質の約5%を占めるグロブリンを欠失した突然変異体を解析することで、子実内でグルテリンが部分分解を受け得ることを明らかにした（業績7）。部分分解は、グルテリンの重合化能に影響するグルテリン $\alpha$ 鎖C末端部に生じていたことから（業績8）、高次構造の変化により製パン性など食品加工特性の改変が可能であると推察された。なお、GluA1, GluA2を欠失した変異体とGluB1, GluB2, GluB4が低減化した変異体は、野生型に比べリシン含有率（モル比）がそれぞれ13%増加、11%減少しており、変異体を利用した育種による栄養性改変の可能も見出している。一方、主としてGluBサブファミリーが低減化した変異体LGC1（低グルテリン米）は易消化性タンパク質が減り、難消化性タンパク質が増えていることから、タンパク質摂取制限が必要な腎臓病患者者のQOL向上に資すると期待された。そこでその品質管理に供する簡便な識別技術を開発した（業績10）。

### 2. イネ子実デンプンの充填不足による白未熟化

地球温暖化に伴うイネ登熟期の高温ストレスにより子実のデンプン充填が不足し、品質ならびに実質の収量が低下している。田中氏は、品種「日本晴」に重イオンビームを照射した変異系統群の中から、野生型よりも約9倍の感度で高温に応答して白未熟粒を多発する変異体flo11-2を見出した（業績11）。flo11-2ではアミロプラストに局在する70 kDa熱ストレスタンパク質2(cpHSP70-2)のATPase活性が23%低下することで、高温下でのデンプン合成が抑制されていたことから、flo11-2は温暖化影響を効果的に評価できる有用な温暖化マーカーになると考えられた。実際に、野生型では効果を検出できない程の短期高温処理により、高温に最も感受性が高くなる登熟ステージおよび白未熟化をもたらす主たる環境要因を特定した（業績12）。さらに、登熟期の窒素施肥は白未熟化を抑制するが、穎果当たり利用可能同化産物量は必ずしも増加させないことを示し、cpHSP70-2が白未熟化抑制に関わる分子機構の解明にせまった（業績13）。登熟期の過剰な窒素施肥は、ジャポニカ米では米飯の硬化をもたらす食味を損なうとされる。そのため、貯蔵タンパク質やHSP70の動態を詳細に解析することで、窒素施肥によらずに白未熟化を抑制する栽培技術の開発につながるかと期待された。

### 3. ソバ子実貯蔵タンパク質の低アレルゲン化

ソバ栽培が我が国では水田転換畑の有効利用として期待されている（業績17, 19）。しかしながら、時に深刻なアレルギー反応を引き起こすことから低アレルゲン化が求められている。田中氏は、主要なアレルゲンである13Sグロブリンと2Sアルブミンの構造と機能を詳細に解析し、以下の知見を得た。まず13Sグロブリンは、植物貯蔵タンパク質の1つとして広く分布するレグミンファミリーの1種でありながら、 $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖から成る基本構造を持つ0回反復サブユニットに加え、 $\alpha$ 鎖に15アミノ酸残基からなる反復挿入配列を有する1-6回反復サブユニットの存在を明らかにした（業績14-16）。反復挿入配列はアルギニンを多く含み親水性であることから、1-6回反復サブユニットはトリプシン易消化性で、0回反復サブユニットの方がより高いアレルゲン性をもつ可能性を示した。そこで、0回反復サブユニットに関する遺伝的多様性を調べた上で（業績20）、低アレルゲン化に有用な遺伝資源の探索を行い、10残基挿入型サブユニットを見出し、そのホモ接合体の消化性が改善されていることを確認した（業績23）。一方、全ゲノム配列の概要を世界で初めて解明し（業績18）、2Sアルブミンが5つの遺伝子（*g03*, *g11*, *g13*, *g14*, *g28*）から成ることを示した。このうち、*g03*は偽遺伝子で、残る4種のうち*g13*タンパク質は低発現量ながらも疎水性が高く注視すべきアレルゲンであることを示した（業績21）。13Sグロブリンにおける遺伝資源探索と同様にして低アレルゲン化に有用な遺伝資源の探索を行ったところ、コード領域に転移因子様配列を有し機能を失った*g13*ヌルアレルを見出し、*g13*欠失系統の作出に成功した（業績22）。さらに易消化型の*g11*アレルや、非機能型の*g28*アレルなどの有用アレルを見出し、それらの集積化による低アレルゲン化を進めている。

田中氏の以上の業績は、作物学においてタンパク質科学の手法を導入することによって品質研究の新しい展開を促した貢献が高く評価される。穀類子実貯蔵物質の品質改善による高付加価値化は、国内では地域農業の活性化に、世界的には植物性食料の消費振興と食料・環境問題の解決に貢献できると期待される。以上より、田中氏の業績は日本作物学会賞に値すると考える。

## 研究業績

1. Katsube, T., N. Kurisaka, M. Ogawa, N. Maruyama, R. Ohtsuka, S. Utsumi and F. Takaiwa 1999. Accumulation of soybean glycinin and its assembly with glutelins in rice. *Plant Physiology* 120: 1063-1074.
2. Katsube-Tanaka, T., J.B. Duldulao, Y. Kimura, S. Iida, T. Yamaguchi, J. Nakano and S. Utsumi 2004. The two subfamilies of rice glutelin differ in both primary and higher-order structures. *Biochimica et Biophysica Acta* 1699: 95-102.
3. Khan, N., Katsube-Tanaka, T., Iida, S., Yamaguchi, T., Nakano, J., Tsujimoto, H. 2008. Diversity of rice glutelin polypeptides in wild species assessed by the higher temperature SDS-PAGE and subunit-specific antibodies. *Electrophoresis* 29: 1308-1316.
4. Khan, N., Katsube-Tanaka, T., Iida, S., Yamaguchi, T., Nakano, J., Tsujimoto, H. 2008. Identification and variation of glutelin  $\alpha$  polypeptides in the genus *Oryza* assessed by two-dimensional electrophoresis and step-by-step immuno detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 4955-4961.
5. Katsube-Tanaka, T., Iida, S., Yamaguchi, T., Nakano, J. 2010. Capillary electrophoresis for analysis of microheterogeneous glutelin subunits in rice (*Oryza sativa* L.). *Electrophoresis* 31: 3566-3572.
6. Katsube-Tanaka, T., Nakashima, H., Khan, N., Yamaguchi, T., Nakano, J. 2011. Changes in the Subunit Composition of Seed Storage Proteins by Controlling Nitrogen and Sulfur Metabolism. *Journal of Crop Research* 56: 17-22.
7. Katsube-Tanaka, T., Khan, N., Yamaguchi, S., Yamaguchi, T., Iida, S. 2016. Glutelin is partially degraded in globulin-less mutants of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Production Science*, 19: 401-410.
8. Khan, N., Yamaguchi, S., Katsube-Tanaka, T. 2017. Possible Cleavage Sites of Glutelin Partial Degradation Confirmed by Immunological Analysis in Globulin-less Mutants of rice (*Oryza sativa* L.). *Electrophoresis* 38: 2622-2630. doi: 10.1002/elps.201700195.
9. 田中朋之 2010. 種子貯蔵タンパク質の分析と品質改善. 日本作物学会紀事 79: 76-80.
10. 飯田修一・春原嘉弘・前田英郎・松下景・田中朋之・山口武視・中野淳一・西村実・草場信・小山洋一・佐々木ミチ・中島敏夫・木下憲明 2005. 低グルテリン米の判定・定量法. 日本国特許庁 (JP), 特願 2005-367024, 平成 17 年 12 月 20 日.
11. Tabassum, R., Dosaka, T., Ichida, H., Morita, R., Ding, Y., Abe, T., Katsube-Tanaka, T. 2020. *FLOURY ENDOSPERM11-2* encodes plastid HSP70 - 2 involved with the temperature - dependent chalkiness of rice (*Oryza sativa* L.) grains. *The Plant Journal* 103: 604-616.
12. Tabassum, R., Dosaka, T., Morita, R., Ichida, H., Ding, Y., Abe, T., Katsube-Tanaka, T. 2020. The conditional chalky grain mutant 'flo11-2' of rice (*Oryza sativa* L.) is sensitive to high temperature and useful for studies on chalkiness. *Plant Production Science* 24: 230-243, DOI: 10.1080/1343943X.2020.1819163.
13. Idowu, O., Katsube-Tanaka, T., Shiraiwa, T. 2023. Nitrogen fertilizer application does not always improve available carbohydrate per spikelet but decreases chalkiness under high temperature in rice (*Oryza sativa* L.) grains, *Field Crops Research* 290: 108741. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2022.108741>.
14. Khan, N., Takahashi, Y., Katsube-Tanaka, T. 2012. Tandem repeat inserts in 13S globulin subunits, the major allergenic storage protein of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds. *Food Chemistry* 133: 29-37.
15. Sano, M., Nakagawa, M., Oishi, A., Yasui, Y., Katsube-Tanaka, T. 2014. Diversification of 13S globulins, allergenic seed storage proteins, of common buckwheat. *Food Chemistry* 155: 192-198.
16. 田中朋之・中川真梨子・佐野まどか・安井康夫 2014. “反復配列を持たない 13S グロブリン” を低減化したソバ個体の育成 - 0 回反復サブユニットの遺伝子識別技術の開発 -. *作物研究* 59: 31-35.
17. 田中朋之 2014. ソバの栽培と特性について. *京大農場報告* 23: 1-6.
18. Yasui, Y., Hirakawa, H., Ueno, M., Matsui, K., Katsube-Tanaka, T., Yang, S.J., Aii, J., Sato, S., Mori, M. 2016. Assembly of the draft genome of buckwheat and its applications in identifying agronomically useful genes. *DNA Research* 23: 215-224.
19. Katsube-Tanaka, T. 2016. Buckwheat Production, Consumption, and Genetic Resources in Japan. In M. Zhou et al. (Eds.) *Molecular Breeding and Nutritional Aspects of Buckwheat*, Elsevier, 2016, 61-80.
20. Monshi, F.I., Khan, N., Kimura, K., Suzuki, S., Yamamoto, Y., Katsube-Tanaka, T. 2020. Structure and diversity of 13S globulin zero-repeat subunit, the trypsin-resistant storage protein of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) seeds. *Breeding Science* 70: 118-127.
21. Katsube-Tanaka, T. and Monshi, F.I. 2022. Characterization of 2S albumin allergenic proteins for anaphylaxis in common buckwheat, *Food Chemistry: Molecular Sciences* 5: 100127, <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100127>.
22. Monshi, F.I. and Katsube-Tanaka, T. 2022. 2S albumin g13 polypeptide, less related to Fag e 2, can be eliminated in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds, *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 5: 100138, <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100138>.
23. Okada, T., Monshi, F.I., Kudo, S., Katsube-Tanaka, T. 2023. Insertion of ten amino acids into 13S globulin zero-repeat subunit improves trypsin digestibility in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 6, 100159, <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100159>.