

## 生物機能応用科学専攻

氏名	陳 潔梅
学位記番号	生博 甲第 141 号
学位記授与の日付け	平成 15 年 3 月 25 日
学位論文題目	Relationship between Physicochemical Property and Amylopectin Structure of Rice Starch (米澱粉の物理化学的性質とアミロペクチン構造との関連性)
論文審査委員	主査 教授・久松 眞 教授・小宮 孝志 教授・古市 幸生

### 要 旨

食品産業では、澱粉物性を澱粉構造の面からも理解することが商品の品質管理や商品開発に重要であるが、現場で役立つ情報は乏しい。一般の澱粉は、アミロペクチンを75%以上含有し残りはアミロース、タンパク質、脂質、それに微量のミネラル類を含むが、物性に強く影響する理由からアミロース含量とタンパク含量だけで澱粉の物性は主に論じられてきた。食品業界では同一品種間の澱粉特性の違いに関する情報を必要とする場合が多いが、この場合一般にアミロース含量やタンパク含量は類似しているため、むしろ主成分であるアミロペクチンの物性に関与する構造情報を明らかにする必要がある。

しかし、アミロペクチンは高度に枝分かれした分子量が1千万を超えるホモ多糖であるため、その精製は容易でなく、また完全構造解析は不可能と考えられる。物性に明らかな違いのあるモチ米と、炊飯米とは利用のされ方が異なる酒米を材料とし、枝切り酵素であるイソアミラーゼを澱粉に短時間作用させ、優先的に生じてくるアミロペクチン分子の外側の枝（短鎖アミロース）を、パルスアンペロメトリー検出器を備えた高速液体クロマト装置（HPAEC-PAD）で分析し、アミロペクチン分子の外側の構造を解析した。同時に、ラピドビスコアライザー（RVA）で得られる物性データの解析からも澱粉の構造特性を推察した。化学的分析結果と物理的分析結果の比較を行い、同一品種間での澱粉特性の違いをアミロペクチン微細構造の違いから理解することができた。

モチ米と酒米における実験結果の要旨は以下の通りである。

#### (1) モチ米に関する研究

餅にしたあと低温で保存した時の生地硬化性は、ハクチョウモチは柔らかく、コガネモチは硬く、ヒヨクモチは中間的な硬さを示す。このように物性が異なる3種類のモチ米澱粉について物性研究と構造研究を行なった。6%、8%、10%、12%澱粉濃度でRVAを測定し、粘度を一定値（200RVU）に定めて解析し直したRVA値を利用する方法を考案し、老化性と正の相関があるセットバック値を求めた。その結果、ハクチョウモチ、ヒヨクモチ、コガネモチの順でセットバック値が増加した。即ち、RVAの測定からコガネモチ、ヒヨクモチ、ハクチョウモチの順で老化性が強いことを説明でき、上述した餅生地の特性と一致した。

一方、枝切り酵素を澱粉に作用させて部分加水分解物を調製し、アミロペクチン分子の外層に存在する枝（短鎖アミロース）の分布をHPAEC-PADで分析した。その結果、ハクチョウモチは短めの枝が多くて長めの枝が少ない特長が明らかとなり、老化しにくい構造であることを示唆した。また、コガネモチはその逆で老化しやすい構造であること、ヒヨクモチは中間的な構造であることが明らかとなり、RVA測定で導かれた物性結果をアミロペクチンの構造特性からも説明することができた。これらの結果から、アミロペクチン分子の外層を構成する鎖長分布の性質が、モチ澱粉の老化性に関係することが分かった。

#### (2) 酒米に関する研究

酒米のアミロペクチンの構造特性を明らかにする目的と同時に、アミロースが共存する澱粉の場合でもアミロペクチンが澱粉物性に影響する可能性のあることを明らかにする目的がある。酒米澱粉試料としては、山田錦、

五百万石、美山錦、北錦、若水を含む 10 品種の酒米を調べた。

澱粉溶液に直接イソアミラーゼを作用させて約 15% 部分加水分解物を調製し、トヨパール HW-50S によるゲルクロマトグラフィーで 3 区分 (fr.1, fr.2, fr.3) に分け、fr.3 に分画されたアミロペクチン分子の外層から切り出された枝を HPAEC-PAD で分析した。各種酒米について、炊飯米のコシヒカリの鎖長分布と比較した結果、酒米のアミロペクチンは dp13-23 付近の長めの枝が多く、同時に dp6-12 付近の短めの枝が少ないことを明

らかにした。この結果、酒米のアミロペクチンは炊飯米 (コシヒカリ) と比べて老化しやすい構造特性を有していることが分かった。

一方、酒米の物性も RVA で測定した。その結果、いずれの酒米もコシヒカリと比べて高い糊化開始温度と高いセットバック値を示し、老化性の高い澱粉が酒米に適していることが明らかとなった。また、アミロース含量がコシヒカリよりも低い酒米も存在することから、アミロペクチンの構造が澱粉の老化に重要な役割を担っていることも明らかにした。

### 生物機能応用科学専攻

氏名	西村 有起
学位記番号	生博 甲第 142 号
学位記授与の日付け	平成 15 年 3 月 25 日
学位論文題目	核小体タンパク質 B23 の哺乳類細胞内での発現と局在に関する研究
論文審査委員	主査 教授・古市 幸生 教授・加納 哲 教授・田中 晶善 助教授・梅川 逸人

### 要 旨

B23 は核小体中に特異的に存在し、腫瘍細胞で多く発現しているタンパク質である。ラット B23 には B23.1 と B23.2 の C 末端アミノ酸配列の異なる 2 種類のイソ型があり、それらの機能は未だ明確にはされていないが、近年では細胞周期調節因子や細胞増殖調節因子としての機能を持つ可能性が示唆されている。B23 の腫瘍細胞や細胞周期中での挙動を明らかにすることは、細胞増殖の機構解明に寄与するものと考えられる。そこで本研究では、ラットの再生肝をモデルとして用いた細胞増殖過程での B23 イソ型の発現変動と、B23.1 の核小体局在配列についての検討を行った。

#### ラット肝臓再生過程における B23 の発現について

肝臓重量は切除 48 時間前後より増加し始め、96 時間後には切除前の約 80% にまで回復していた。これらの再生肝の DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  活性は切除 15 時間後より上昇し始め、切除 24 時間後に最大となった。この時期を細胞周期 S 期とした。また、B23.1 mRNA は肝臓切除 9 時間後に、B23.2 mRNA は 12 時間後に発現の増大が認められ、B23.1 と B23.2 とともに S 期以前に発現し、

細胞周期依存的な挙動を示すことが明らかになった。肝臓の再生の信号は切除断片付近の肝葉周辺部より肝葉中心部に向かって順に伝達され、この信号の伝達に伴い、DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  も同じ方向性で活性化が進行する。そこで B23 の再生肝中での発現の方向性を検討することによって、B23 が DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  の活性を促進し、細胞の増殖を促しているかと仮定出来るのではないかと考え、再生中の肝細胞での B23 タンパク質発現を B23.1 モノクローナル抗体による免疫染色にて検討した。その結果、切除断片付近肝葉周辺部の B23 タンパク質発現は 21 時間後では核全体に観察されたが、48 時間後では核小体のみ発現が観察された。これは 21 時間後では B23 が DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  の活性を補助するために核小体から核質へと移動し、48 時間後では DNA 複製の進行に伴い、通常発現場所である核小体に戻ったことを示唆するものである。またその間、B23 のタンパク質発現自体は高値を維持していた。細胞内において B23 がどのような機構で DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  の活性を促進するのかは明らかにはされていないが、組織染色の結果より、DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  の活性化の初期段階に