

氏名(本籍)	ば ば 忠 (大分県)
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	博 甲 第 174 号
学位授与年月日	昭和58年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
審査研究科	農学研究科 応用生物化学専攻
学位論文題目	Biochemical Studies on Starch Biosynthesis in Amylomaize Endosperms (アミロメイズ胚乳中における澱粉生成に関する生化学的研究)
主査	筑波大学教授 農学博士 村 上 和 雄
副査	筑波大学教授 農学博士 安 井 恒 男
副査	筑波大学教授 農学博士 今 川 弘
副査	筑波大学教授 理学博士 鈴 木 恕
副査	筑波大学教授 理学博士 新 井 勇 治

## 論 文 の 要 旨

澱粉は植物体にとってほとんど普遍的かつ主要な貯蔵炭水化物源であり、我々人類の食糧として古くから重要な役割を果たしてきている。しかしながら、澱粉はその多くの研究にもかかわらず、未だ不明な点が多く残されている。通常、澱粉は約 25%の主に直鎖状のアミロースと約 75%の高度に分枝したアミロペクチンから構成されているけれども、これらの成分が生体内においてどのように合成されているのかなど、現在もなお、想像の域を脱していない。

一方、トウモロコシはその胚乳中に生成する澱粉が、定性的及び定量的に遺伝子の支配を受けるため、澱粉生合成機構の解明の上で、特に有益な材料と考えられている。種々の変異株の中でも、*amylose-extender (ae)* 株の澱粉は、50~80%のかなり高いアミロース含量を有することでよく知られている。さらにその変異株からの澱粉は、粒としての性質や構造の点でも他のものと大きく異なっていることもその特徴として知られている。したがって、アミロメイズ胚乳においては、その澱粉生合成過程に普通とは異なる何らかの因子が存在すると考えられる。また、トウモロコシの胚乳は3倍体であるため、例えば*ae*遺伝子はその数において0~3個含まれるような、遺伝子型の違う4種類の胚乳組織を作ることが可能であり、ある遺伝子の澱粉生合成に及ぼす影響をより明瞭に調べることができる。

本研究ではこれらの点に着目し、遺伝的背景に立ちながら生化学的に、*ae*遺伝子によって影響を

受けているアミロメイズ澱粉の生合成機構の解明を目的とする基礎的研究を行なっている。

みかけのアミロース含量は胚乳中の $ae$ 遺伝子数の増加により増加し、どれも受粉後10～22日の間で急激な増加が観察された。胚乳中の種々の炭水化物含量と澱粉合成酵素の含量には異なる数の $ae$ 遺伝子間で著しい相違は見い出せなかったが、枝作り酵素の含量が $ae$ 数の増加によって減少し、特にアミロメイズ胚乳中のその酵素含量は、成育段階中を通じて普通株の約 $\frac{1}{3}$ 程度であった。さらに、成育時期の異なる澱粉について、その構造と構成成分の検討を加えたところ、 $ae$ 遺伝子数にかかわらず成育の初期、末期を通じてそのアミロペクチンの構造の変化は認められなかった。また、澱粉の構成成分に関しては、アミロメイズでは、その澱粉合成初期の段階で、アミロースやアミロペクチン以外の中間体、または比較的短鎖のアミロースの生合成が盛んであることが示唆された。これらの結果は、従来考えられていたアミロメイズ澱粉中の高い比率のアミロースの蓄積が、生体内の系での枝切り酵素による澱粉の枝切りのためであるという考えを否定し、そのアミロースの増加が、枝作り酵素含量の低下による澱粉中の各成分への枝つけ不足によるものであること、加えて成育段階初期に、アミロメイズ特有の澱粉生合成が存在することなどを示唆した点で重要である。

次に $ae$ 遺伝子の澱粉合成酵素系への影響を調べる目的で、まず可溶性澱粉合成酵素の多種形態の存在の試験を、胚乳からの抽出液の電気泳動後の活性染色によって行なった。確認された7本の活性バンドのうち、移動度が最も小さく、青色に染まったバンド1～4は、 $ae$ 遺伝子が胚乳中に存在する時にしか出現せず、その出現の期間も $ae$ 遺伝子数の増加で長くなった。他方、移動度の最も大きかったバンド7は、 $ae$ 数の増加によってヨウ素染色によるそのバンドの色が、赤茶色から青紫色に変色し、各々の生成物のヨウ素吸収スペクトルの最大吸収波長は、 $ae$ 数の増加によって高波長側にずれた。これらのことは、 $ae$ 遺伝子によって規制される直鎖状の物質の生合成機構の存在と普通株の胚乳に澱粉合成酵素と枝作り酵素の複合体の存在、さらにその複合体の分枝形成能力に $ae$ 遺伝子が影響を与えていることなどを示唆した。

$ae$ 遺伝子数の異なる4種類の胚乳に含まれる顆粒性澱粉合成酵素について、基質であるADP-及びUDP-glucoseの利用率とそのKm値を調べたところ、著しい差は見出すことはできなかった。

加えて、アミロメイズ胚乳中の枝作り酵素の精製を試みたところ、3形態の酵素の存在が確認され、そのうちのひとつをディスク電気泳動的に単一なものまで精製することに成功した。その精製酵素の種々の性質は、既に報告されている普通株からのものと類似性を示し、両者は同一なものであると考えられ、さらに詳しい検討の余地はあるが、 $ae$ 遺伝子の枝作り酵素への影響は質的な変化よりむしろその量的な変化に大きく起因していると推定した。

得られたこれらの結果をさらに確実なものにするには、アミロメイズ澱粉中の構成成分とその微細構造に関する確かな情報が必要であると考えたので、次にアミロメイズの胚乳より調製した澱粉の構成成分について検討を加えたところ、確かに普通株の澱粉中に含まれるアミロースと同様のアミロースが、アミロメイズ澱粉中にも認められたが、その含量は元の澱粉に対して約39%程度であり、ヨウ素との親和値より求めたみかけのアミロース含量(約50%)との間に大きな値の相違が生じた。残りの76%の成分についてさらに検討を加えた結果、元の澱粉の40%は、普通のものと同様

が異なると考えられるアミロペクチン、また30%の物質は、アミロースよりは低分子性の分枝を有するアミロースともアミロペクチンとも認識することのできない、いわゆる中間体であると判断した。また、短鎖のアミロースの存在は確認することはできなかった。これらのことは、従来多くの研究者によって*ae*遺伝子が、澱粉中のアミロース含量を増加させる因子であると考えられてきたが、実際にはその遺伝子の役割は、アミロース含量の増加よりむしろ、他の正常な澱粉中にはほとんど存在しない中間体の量的増加と、異常な構造を有するアミロペクチンの生成に関与していることが明確となった点で重要な意義を有している。

事実、これらのアミロメイズ澱粉に特有な構成成分である異常な構造を有するアミロペクチンと中間体は、両者ともかなりの量のヨウ素親和力を示し、特に、中間体は澱粉の溶解剤であるジメチルスルホキシドに容易に溶けることが観察された。したがって、広く知られているアミロメイズ澱粉特有の物理的性質、すなわち高いヨウ素親和性やジメチルスルホキシド易溶性がこのことによって容易に説明できると考えられた。

さらに、アミロメイズ澱粉中のアミロペクチンと中間体の微細構造を決定するために、各々を単離し、化学的及び酵素的手段を用いて分析した。種々の分析値より得られたアミロメイズのアミロペクチンの平均鎖長は、普通のものより約10グルコース単位長く、アミロペクチンの分子を形成している単位鎖の分布も、普通のものとはかなり異なっていた。すなわち、普通のアミロペクチンでは、短い単位鎖画分が長いものの画分に比べその含量の点でかなり多いのに対し、アミロメイズのアミロペクチンでは、その傾向が逆転していた。さらに各々のアミロペクチンの $\beta$ -リミットデキストリンの性質を調べたところ、アミロメイズのアミロペクチン中に普通株のものより長い内部鎖の存在が示唆された。そして、種々のデータの解析より、アミロメイズのアミロペクチンは、内部鎖及び外部鎖の長い、特に外部鎖の分枝頻度の少ない異常な分子構造であると推定した。

一方、中間体の微細構造について検討を加えたところ、この物質は明らかにアミロースより低分子性で分枝を有していることが再確認された。またこの物質の化学的構造解析、枝切り後の単位鎖の分布、 $\beta$ -リミットデキストリンの構造などから、この中間体の微細構造は、100~150グルコース単位の直鎖状の主鎖に、鎖長約50前後の分枝が4~5本結合したものであると結論した。このような構造の物質が、多量に澱粉中に含まれているという事実は、普通の澱粉では見いだされておらず、非常に重要なことと考えられる。

## 審 査 の 要 旨

澱粉の構造やその生合成に関する研究には、多くの未解決の問題が残されている。本研究は、*amylose-extender (ae)* 遺伝子支配の高アミロース澱粉を有するトウモロコシを用いて、澱粉生合成系の酵素と生成した澱粉についての構造に関して生化学的研究を行った。その結果、高アミロース澱粉が異常な構造を有するアミロペクチンと、その中間体を構成成分として含むことを発見し、同時に澱粉

生合成関連酵素の消長を明らかにし、それらの特有の成分の生成のメカニズムを推定した。

これらの結果は、従来一般に信じられてきた定説をくつがえす新しい発見であり、澱粉生合成の機構一般を考えるうえで新しい解釈を可能にした。このことは国内外の澱粉科学分野で、高く評価されている。

よって、著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。