

氏名	古井 聡
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第1761号
学位授与の日付	平成10年3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	ホウレンソウ種子 $\alpha$ -グルコシダーゼに関する研究
論文審査委員	教授 田中 英彦 教授 杉尾 剛 教授 多田 幹郎 教授 玉田 哲男 教授 積木 久明

### 学位論文内容の要旨

ホウレンソウ種子 $\alpha$ -グルコシダーゼは4種類の分子多型として出現し、その後2種類に収束することを見い出した。これら $\alpha$ -グルコシダーゼを精製した結果、本酵素は $\alpha$ -グルカンを加水分解するタイプと、主としてマルトオリゴ糖を作用するタイプに分類できることを示した。また、前者は $\alpha$ -1,4および $\alpha$ -1,6転移活性を、後者は $\alpha$ -1,4および $\alpha$ -1,2転移活性を有することを明らかにした。次に、ホウレンソウ $\alpha$ -グルコシダーゼをコードするcDNAをクローニングし、その塩基配列を決定した。その結果、ホウレンソウ $\alpha$ -グルコシダーゼcDNAは基質特異性が異なる $\alpha$ -グルコシダーゼを同一遺伝子上にコードしていること、本酵素遺伝子は染色体上に1つしかコードされていないことを明らかにした。以上の結果から、基質特異性が異なるホウレンソウ種子 $\alpha$ -グルコシダーゼの分子多型は、タンパク質翻訳後の修飾により出現することを明らかにした。

## 論文審査結果の要旨

本論文はホウレンソウ種子に存在する基質特異性が異なる $\alpha$ -グルコシダーゼについて、分子多型の出現とその機構に関する解析を行なったものである。

まず、常温保存のホウレンソウ種子から $\alpha$ -グルコシダーゼを単一タンパク質に精製して、4種類の分子多型が存在することを明らかにする一方、低温(4℃)保存種子中からも酵素を精製して、2種類の分子多型が存在することを見出した。これらの精製酵素の基質特異性その他の酵素化学的性質や免疫化学反応から、これらが2種類の酵素タンパク質に収束されると結論づけた。さらに、これらの酵素の特性を明らかにするために、様々な糖転移反応を試みた結果、それぞれ $\alpha$ -1, 4および1, 6転移活性と $\alpha$ -1, 4および1, 2転移活性を特徴とすることを見出した。これらの特徴的な転移活性は稀少オリゴ糖の生産への応用が可能である。

さらに、申請者は上記酵素のcDNAをクローニングしてその塩基配列を決定し、推定アミノ酸配列内に多型酵素のペプチド配列が含まれていることを明らかにするとともに、サザンブロット解析から $\alpha$ -グルコシダーゼ遺伝子が全染色体に一つしかコードされていないことを見出した。これらの結果から、分子多型は単一遺伝子からタンパク質への翻訳後の修飾過程で出現すると結論づけた。

以上のように、本研究は新たな植物 $\alpha$ -グルコシダーゼの情報を提供し、稀少オリゴ糖生産への応用を示唆するとともに、これまでほとんど研究されていない植物 $\alpha$ -グルコシダーゼの分子多型出現機構を解明したものとして、学位に十分値するものと評価できる。また、論文内容は生体物質生化学分野専攻として妥当であり、学位に相当する学力および学識を有していると判定される。