

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 ANUWONG CHAMAIPORN
学位 博士 (農学)
学位記番号 新大院博 (農) 第 157 号
学位授与の日付 平成 28 年 3 月 23 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 **Research on characteristics and utilization of storage protein in *Curcuma alismatifolia* Gagnep.**
(クルクマにおける貯蔵タンパク質の性質と利用に関する研究)

論文審査委員 主査 教授・大山 卓爾
副査 教授・末吉 邦
副査 准教授・中野 優
副査 准教授・大竹 憲邦
副査 准教授・Ruamrungsri Soraya (チェンマイ大学)

博士論文の要旨

クルクマ (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) は、地下部に根茎と貯蔵根の二つの貯蔵器官を持ち、どちらの器官もクルクマの生育初期に数本のシュート (花茎) の形成に養分を供給し、生育期間の終わりには枯死する。一方、生育後期にシュート下部に新しい根茎と貯蔵根が形成され養分が貯蔵される。これまでの研究で、根茎は主に窒素貯蔵の働きをするが、一方、貯蔵根は主に炭水化物を貯蔵することが報告されている。本研究では、次の 3 課題の研究を実施した。

1) 顕微鏡観察によるクルクマ貯蔵器官におけるタンパク質とデンプンの集積部位

貯蔵器官の徒手切片を作成し、タンパク質染色にクマシーブリリアントブルー (CBB) を、デンプンの染色にヨウ素・ヨウ化カリウム溶液を用いて、タンパク質とデンプンの蓄積部位を顕微鏡で観察した。CBB 染色では、根茎の方が貯蔵根よりも強く染まり、細胞質のプロテインボディ様の粒子が強く染色された。

2) クルクマの生育期間別貯蔵器官中の可溶性窒素、不溶性窒素量の変化

根茎と貯蔵根を植付け時から収穫まで生育時期別に 5 つのステージで採取し、凍結乾燥後粉砕した。粉末を低濃度のリン酸緩衝液 (PBS) で抽出し、PBS 可溶性画分と PBS 不溶性画分に分画した。PBS 可溶性画分は、主として水溶性タンパク質および遊離のアミノ酸などを含み、PBS 不溶性画分は、不溶性タンパク質や核酸、脂質などを含む。根茎、貯蔵根ともに、PBS 不溶性画分が PBS 可溶性画分の 3~4 倍多くの窒素を含んでいた。生育ステージが進むに連れて、開花期以降、両器官ともに PBS 可溶性画分も PBS 不溶性画分も急激に減少した。このことは、どちらの画分もある種の貯蔵タンパク質を含んでおり、生育器官中に分解されて植物に窒素を供給すると考えられる。PBS 可溶性画分にトリクロロ酢酸 (TCA) を加えて、TCA 可溶性画分と TCA 不溶性画分に分けた。TCA 不溶性画分は、主に可溶性タンパク質を、TCA 可溶性画分は、アミノ酸などを含む。球根植え込み後から萌芽までの間に、根茎も貯蔵根も一時的に TCA 可溶性画分が減少し、TCA 不溶性画分が増加した。このことは、萌芽までに貯蔵組織でタンパク質合成が起こったことを示唆する。

3) クルクマの貯蔵タンパク質の性質と同定

根茎と貯蔵根の PBS 可溶性画分に含まれる可溶性タンパク質を SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) で分離し、貯蔵タンパク質の生育時期別変化と同定を試みた。SDS-PAGE の結果、根茎に含まれる主要な貯蔵タンパク質は、10.6 kDa と 12.0kDa の二つであり、これらは貯蔵根の主要な貯蔵タンパク質バンドとは分子量が異なっていた。二次元電気泳動でさらに分析したところ、10.6 kDa のバンドには、5 種のペプチドが、12.0kDa のバンドには 1 種類のペプチドが含まれた。6 種のペプチドのアミノ酸配列を調べて、BLASTP および FASTA 検索をしたところ、既知のタンパク質との相同性は認められなかった。また、どのペプチドも N 末端にメチオニンを含んでいなかったため、翻訳後修飾が行われていると考えられた。クルクマの貯蔵タンパク質に関する本研究は、窒素施肥の改善に役立つことが期待される。

審査結果の要旨

本研究は、タイの重要な花卉球根植物であるクルクマの貯蔵組織、根茎と貯蔵根の貯蔵タンパク質に関して新たな知見を得たものであり高く評価される。また、本論文に記載されている内容の一部は、国際誌である *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* (2014 年)に本人を筆頭著者とした論文が掲載された。よって、本論文は、博士 (農学) の学位論文として十分であると認定した。