

平成27年度
杉山産業化学研究所研究助成

ナタネ蛋白質の簡便な調製方法の確立と有効活用に関する
研究

報告書

2016年4月1日

静岡大学グリーン科学技術研究所

原 正和

原 正和
静岡大学グリーン科学技術研究所
〒422-8529 静岡市駿河区大谷836
電話&FAX 054-238-5134
メール amhara@ipc.shizuoka.ac.jp

1 背景とねらい

油糧作物の蛋白質研究は、主にダイズによって展開され、植物性蛋白質の市場が確立された。一方、わが国で利用されるもう一つの油糧作物のナタネに関しては、蛋白質の生産と利用に関する研究はあまり進んでいない。これは、ダイズが、歴史的に蛋白質性食材として利用されてきた一方、ナタネにはそうした背景がないからと考えられる。しかし、ナタネもまた、蛋白質を豊富に含み、その機能性が見出されれば、新たな有効利用が期待される。そこで代表者は、H26年度に試験した簡便法で粗クルシフェリン(ナタネ蛋白質主要成分)を調製し、本蛋白質の機能探索と、もう一つのナタネ蛋白質オレオシンの簡易調製法の研究に取り組んだ。

2 小課題1 クルシフェリンの機能研究(抗酸化性並びに植物活性化作用)

2-1 目的

クルシフェリンは、11Sグロブリンであり、ナタネに最も多く含まれる貯蔵蛋白質である。近年、クルシフェリンの機能研究が活発になり、乳化作用、ACE阻害活性(アンジオテンシン変換酵素阻害、高血圧予防を期待)が報告されている。ここでは、これらとは異なる生理作用を見出すべく、抗酸化性と植物活性化作用について調査した。

2-2 方法

抗酸化性は、アスコルビン酸の酸化を指標に評価した。クルシフェリンのほか、ダイズ蛋白質の抗酸化活性を測定し、比較した。クルシフェリンは当研究室で粗精製したものを、ダイズ蛋白質はワコーの製品を用いた。アスコルビン酸の酸化を加速するため、低濃度の銅イオンを添加した。還元型アスコルビン酸の濃度を290 nmの吸光度で6分間スキャンし、全ての試験対象蛋白質に対し、 Δabs (290 nm/min)を求めた。さらに、アスコルビン酸の酸化を50%抑制した試験対象蛋白質の濃度(IC₅₀)を、酸化抑制活性として算出した。

植物活性化作用は、コマツナポット栽培法で調査した。育苗用プラスチックポット(5cm角鉢型)に培養土を入れた。培養土には、何も加えないもの、クルシフェリンを0.1%、0.5%、1%になるように培養土に混ぜ込んだものを用意し、コマツナ種子を播種して冠水し、栽培を開始した。播種後2週間で収穫し、地上部の新鮮重量を測定した。

2-3 結果と考察

クルシフェリンとダイズ蛋白質の抗酸化性を評価したところ、クルシフェリンの方が、ダイズ蛋白質よりも、1.7倍ほど、アスコルビン酸の酸化抑制活性が高いことが分かった。抗酸化性を期待して種子蛋白質を利用する場合、クルシフェリンもまた有望であると言える。

コマツナの試験では、クルシフェリンを添加してもしなくても、コマツナの新鮮重量に目立った違いは見られなかった。今回用いた培養土は、すでに、適量の肥料が含まれており、クルシフェリンの効果が見えにくかった可能性がある。実際の圃場では、肥料は過多傾向にあり、仮にクルシフェリンを追肥しても植物の成長増加が見込める可能性は低い。

3 小課題2 オレオシンの簡易調製法

3-1 目的

オレオシンは、クルシフェリンに比べれば含量は低い、オイルボディーの構成蛋白質という点で特徴があり、乳化や基材として活用が期待される。これまで、オレオシンの分画は、陰イオン性界面活性剤(例えばドデシル硫酸ナトリウムSDS)を使って可溶化する方法が一般的であったが、一度添加したSDSは除去しにくいという難点があった。最近、オレオシンの分画にpH調整法が適応された。そこで、本手法をベースに、圧搾ナタネ材料からオレオシンを粗精製する手法の確立を目指した。

3-2 方法

オレオシンの簡便な粗精製法の確立には、マイクロ試験管を使い、様々な条件で試行錯誤を行った。最終的な方法を下に記す。圧搾ナタネ種子をヘキサンで脱脂し、風乾したものを用意した。マイクロ試験管に10 mgの脱脂圧搾ナタネを投入し、100 μ Lの脱イオン水を加えて10分攪拌した。遠心(15,000 rpm 5 min 室温)後、ペレットを得た。ペレットを再度100 μ Lの脱イオン水を加えて同じ操作を繰り返した。そのペレットに対し、0.1 N NaOHを100 μ L加えて再懸濁させ、遠心によって上清を得た。上清は速やかに0.1 N HClで中和し、僅かに生じたペレットを遠心で回収して、10 mM Tris-HCl pH7で溶解した。

3-3 結果と考察

上記の粗精製の結果、20 kDaよりやや低分子の領域に、オレオシンと考えられるバンドを得た(図1)。この方法では、複数の夾雑バンドが見られたものの、参考にした論文にあるような蛋白質の部分分解は見られず、良好な方法といえる。現在、粗精製オレオシンの機能を調査中である。

4 結論

今回、ナタネ搾油後のミールに含まれる蛋白質の利用に関する研究を行った。クルシフェリンの機能研究では、アスコルビン酸の酸化を防ぐ活性が見いだされ、ダイズ蛋白質より良好な結果を得た。さらに、圧搾ナタネサンプルから、簡単な分画によって、オレオシンを粗精製する方法を見出した。

5 今後の展開

クルシフェリンやオレオシンの新しい利用方法を研究する。

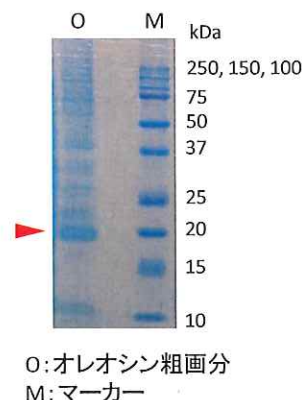


図1 粗オレオシンの
ミクロスケール分画