

論文審査の結果の要旨

報告番号	博(生)甲第226号	氏名	吉田 朝美
学位審査委員		主査 原 研治 副査 長富 潔 副査 橋 勝康	
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>吉田朝美氏は2007年4月長崎大学大学院生産科学研究科博士後期課程に入学し、現在に至っている。同氏は生産科学研究科に入学以降、海洋生産科学を専攻して所定の単位を修得すると共に、マダイ筋肉中のコラーゲンのプロテオリシスに関する研究に従事し、その成果を2009年12月に主論文「マダイ筋肉中のコラーゲン分解酵素の構造及び機能に関する研究」として完成させ、参考論文として、学位論文の印刷公表論文2編(うち審査付き論文2編)、学位の基礎となる論文5編(うち審査付き論文5編)、その他の論文1編(審査付き論文)を付して、博士(学術)の学位を申請した。</p> <p>長崎大学大学院生産科学研究科教授会は2009年12月16日の定例教授会において、論文内容等を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、上記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施すると共に、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を2010年2月17日の研究科教授会に報告した。</p> <p>本研究は、魚肉軟化機構を解明する一環として、マダイ筋肉中のコラーゲン分解に関わるプロテアーゼの構造及び機能の解析を行ったものである。コラーゲン分解に関わるプロテアーゼとしては、コラゲナーゼ並びにゼラチン分解酵素が挙げられる。コラーゲン分子は三重らせん構造をとる安定なタンパク質であり、生体内ではコラゲナーゼによってのみ三重らせん部位が限定分解される。限定分解されたコラーゲン分子は、その熱変性温度が低下することにより、生体内の温度で変性しゼラチンとなり、次いでゼラチン分解酵素がこれを分解する。本論文の第1章～第5章ではマダイゼラチン分解酵素について、第6章ではマダイコラゲナーゼについて述べている。</p> <p>第1章では、マダイ筋肉より分子量の異なる4種のゼラチン分解酵素を部分精製し、各々の性状を調べている。その分子量は、活性の高い順にG1:約90kDa, G2:約65kDa, G3:約60kDa, G4:約100kDであった。その中で、G1とG4はセリンプロテアーゼ、G2とG3はメタロプロテアーゼであることを明らかにした。さらに、いずれの酵素も、魚体死後の筋肉中の</p>			

pH においても魚の流通・保存時の温度においても酵素活性を有していることから、これらの酵素が冷蔵保存中のタンパク質分解（軟化）に関与していることを示唆した。

第2章ではこの中で活性が一番高かった G1 に着目し、この酵素を精製し、分子量 及び N 末端アミノ酸配列 32 残基 (ILGGLKVSPGSIPWQVSVQVRPQNSNLPFKHT) を決定している。また、この N 末端配列は、NCBI BLAST による相同性検索の結果より、血液中に存在する hyaluronan binding protein 2 (HABP-2) と相同性を示した。このことより、G1 が血液由来の酵素であることを予想している。

第3章では、第2章での予想に基づき、マダイ血清から G1 に相当する酵素を精製し、その分子量や N 末端アミノ酸配列及び諸性質を明らかにした。これらの結果から、マダイ筋肉中の G1 は血液由来の酵素であることをつきとめている。

第4章では、G1 の生理機能解析の足がかりとして、マダイ肝臓からの cDNA クローニングより G1 の全一次構造を決定した。その構造から、G1 は線溶系酵素と同様、EGF (epidermal growth factor) 様ドメイン、クリングルドメイン、トリプシン様ドメインを有することを明らかにした。従って、G1 は肝臓で生合成され、血液に運ばれる線溶系酵素である可能性を示唆した。なお、G1 cDNA の塩基配列より演繹されたアミノ酸配列は、筋肉からの精製酵素の N 末端配列 32 残基と完全に一致する配列を含んでおり、さらにセリン酵素の活性中心である Ser、His 及び Asp も保存されていた。

第5章では、マダイ G1 の mRNA 及び酵素活性の組織分布について検討した。その結果、G1 mRNA は肝臓においてのみ強い発現が認められたが、その酵素活性（タンパク質）は肝臓、筋肉、腎臓、心臓、卵巣において認められることを示した。従って、マダイ G1 は肝臓で生合成され、血液を介して筋肉及び他の臓器へ運ばれ、各臓器において機能することを明らかにした。

第6章では、マダイ筋肉中に I 型コラーゲンを分解するコラゲナーゼの存在を確認し、その諸性質を明らかにした。

以上のように、本論文は魚肉の肉質に関わるコラーゲンのプロテアーゼによる分解機構を明らかにした。学位審査委員会は、これらの知見が水産食品学の分野において極めて有益な成果であるとともに、この分野の進歩発展に貢献するところが大きいと評価し、博士（学術）の学位に値するものとして合格と判定した。