

大豆蛋白質の酸分別沈殿法による分画画分の超遠心分析法による解析

宇高京子 南雲葉子

(昭和55年9月30日受理)

Ultracentrifugal Analysis of Soybean Protein Fractions obtained by the Method of a Fractional Acid Precipitation

Kyoko UDAKA, and Yoko NAGUMO

(Received September 30, 1980)

緒 言

大豆グロブリン成分は全可溶性蛋白質の約80%にも相当し、その分離の歴史は大豆の利用の歴史と共に始まったと見做してよいであろう。ただ学術研究の立場からみた場合、1898年の Osborne 等¹⁾の報告が初めてであると思われる。すなわち、彼等は大豆蛋白質の中で塩類溶液に可溶で透析によって沈殿する蛋白質が大豆蛋白質の主成分であり、かつ単一成分であるとして、大豆の植物名、グリシン・マックス (*Glycine max. L.*) にちなんで“グリニン”と名付けた。その後、約60年程の間に大豆蛋白質に関する内外の文献は膨大な数にのぼり枚挙にいとまがない程であったが、食品加工への応用研究にその主眼がおかれたためか、あるいは大豆蛋白質成分の分離精製が、これらの成分のもつ電氣的性質の類似、および pH、イオン強度等の変化による解離会合現象によって困難であったためか、蛋白質化学における基礎的分野での研究成果にはほとんどみるべきものがなかった。そして、単一な成分と見做されていた。Osborne 等¹⁾の“グリニン”が、実は数種のグロブリン成分の混合物で、試料の調製方法により組成が大きく異なることが明らかにされたのは1950年代に入って間もなくのことであった²⁾³⁾。それ以後、かわって大豆グロブリン成分を沈降定数の違いで分類する方法が用いられるようになった³⁾⁴⁾。すなわち、超遠心分析からグロブリン成分は 2S、7S、11S および 15S の4つの成分に分類された。このうち、7S および 11S 成分が主要成分で全グロブリン画分の70%以上を占めると報告された⁵⁾⁶⁾。著者らは大豆貯蔵

蛋白質各成分の連続的分離精製法について研究を進めており、精製操作の第1段階として酸分別沈殿法を確立した⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。本論文では前報¹¹⁾¹²⁾¹³⁾と同様に酸分別沈殿法によって得た各画分の純度の検定法の1つとして、分析用超遠心機による遠心像の解析をおこなったので報告する。

研究 方法

1. 試料：大豆 (*Glycine max var. Okuhara No. 1*) を冷結乾燥後、ウィリー型の磨砕機でドライアイス-アセトン中で冷却しながら粉碎し、次いで n-ヘキサンで脱脂後、風乾し、出発材料とした。
2. 酸分別沈殿法による蛋白質の分画
前報¹¹⁾¹²⁾の通りおこなった。
3. ゲル濾過法：上記の酸分別沈殿法によって得た各画分を Bio-gel A-1.5 m (Bio Rad 社製) によりゲル濾過を行なった。1M-食塩を含む 0.01 M-バルビタール緩衝液 (pH 8.0)、カラムサイズ 26×820 mm、流速 0.5 ml/min、10 ml ずつ集め 280 nm で吸光度を測定した。
4. 分画画分の超遠心分析法⁷⁾

用いた分析用超遠心機は日立製分析用超遠心 UCA-2 型、セルはシングルセルで試料濃度は 0.6~1.0% (w/v) 回転速度は 55,470 rpm、溶媒は 1M-食塩 0.01 M-バルビタール緩衝液 (pH 8.0) であった。

実験結果および考察

Fig. 1 から Fig. 4 に示したのは酸分別沈殿法によって得た分別各画分の超遠心分析像である。Fig. 1-(A) は WIS 画分を示したものである。11S (グリニン) 7S (特に γ -コングリニン) 蛋白質成分から成っている

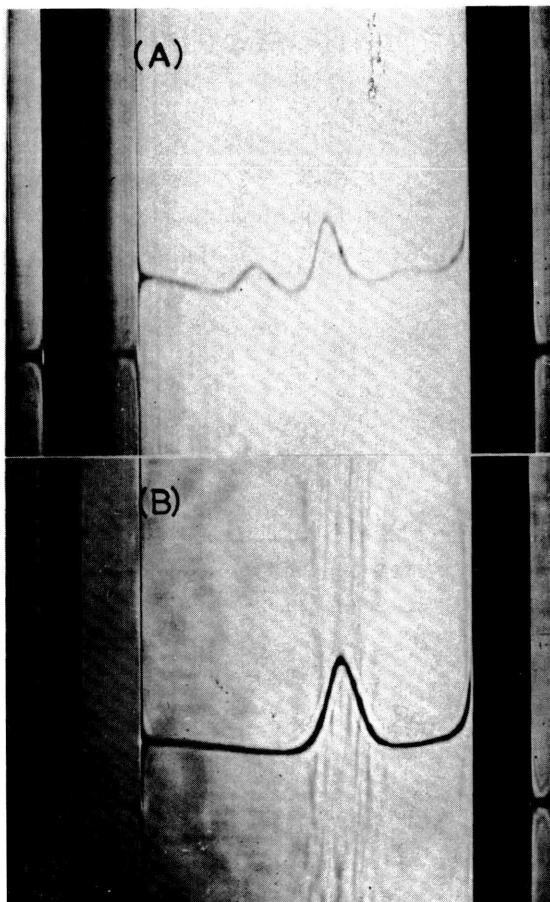
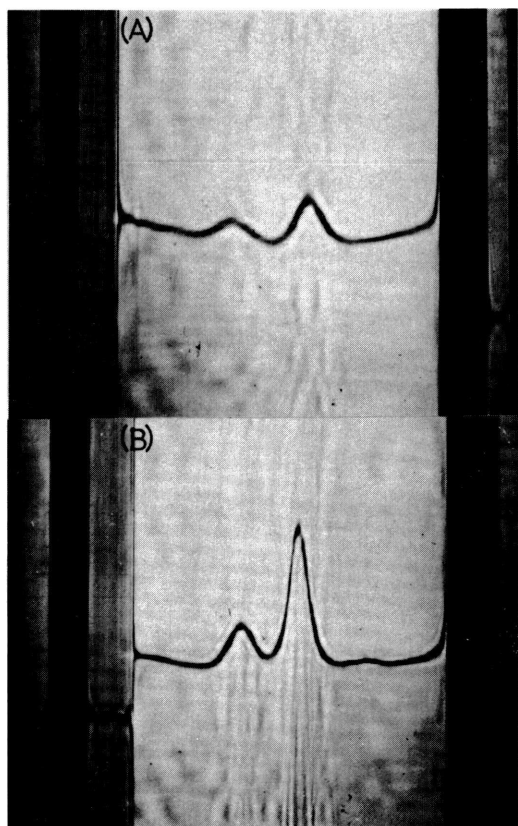


Fig. 1 Ultracentrifugal Patterns of Main Peaks obtained from Acid Precipitated Fractions by the Method of Gel-Filtration on Bio-Gel A-1.5 M

Ultracentrifugal runs were made with HITACHI UCA-11 analytical ultracentrifuge equipped with schlieren optics, at 55,430 rpm, at 18°C, in a single-sector 12-mm cell. (A) : fractions 1-2 of WIS (second peak of gel-filtration profile on Bio-Gel A-1.5 M), 0.5% solution in the pH 8.0 barbital buffered saline ($\mu=0.65$); (B) : fractions 1-3 (second peak of FA), 1.0% solution in the pH 8.0 barbital buffered saline ($\mu=0.65$). Photographs were taken at 51 min after reaching the enactment speed.

Fig. 2 Ultracentrifugal Patterns of FA and purified Glycinin

Photographs were taken at 51 min after reaching a enactment speed of 55,430 rpm in barbital buffer containing NaCl solution ($\mu=0.65$). Direction of sedimentation is from left to right. (A) : FA (1% protein solution); (B) : purified glycinin (0.6% protein solution)

た。Fig. 1-(B) FA 画分は 11S, 7S (γ -コングリニン), 15S 蛋白質が認められるが特に 11S 蛋白質が多く存在する。Fig. 2 は純品の 11S (グリシン) 蛋白質と FA 画分蛋白質成分の位置を示したものである。Fig. 3-(A) は FB 画分であるが 11S 成分が非常に多く存在し, 7S はごくわずかである。Fig. 3-(B) は FC 画分を示すが 11S と 7S 成分とが同程度に存在している。

Fig. 4-(A), (B) に示すように FD および FE 画分になるとほぼ 7S 蛋白質成分のみになる (特に β -コングリニン) Fig. 4-(C) の FF 画分になると少量の 7S 成分の他は低分子区分である。

以上の結果はこれまでに報告してきた結果と一致する。

要 約

大豆主要貯蔵蛋白質成分である 11S 蛋白質 (グリニン), 7S 蛋白質 (γ -および β -コングリニン) 等の大容量の連続分離精製法について超遠心分析法による遠

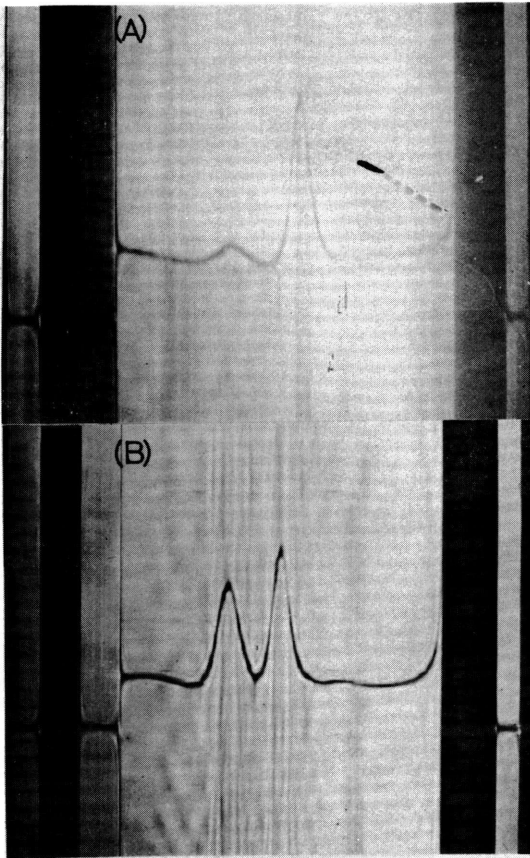


Fig. 3 Ultracentrifugal Patterns of Main Peaks obtained from Acid Precipitated Fractions by the Method of Gel-Filtration on Bio-Gel A-1.5 M Ultracentrifugal runs were made at 55,430 rpm in a single-sector 12-mm cell (at 18°C). Photographs were taken at 51 min after reaching the enactment speed. (A) : fractions 1-3 of FB (second peak of gel-filtration profile on bio-gel A-1.5 m), 1.0% solution in the pH 8.0 barbital buffered saline ($\mu=0.65$); (B) : fractions 1-4 of FC (second and third peaks of the gel-chromatography), 1.0% solution in the pH 8.0 barbital buffered saline ($\mu=0.65$).

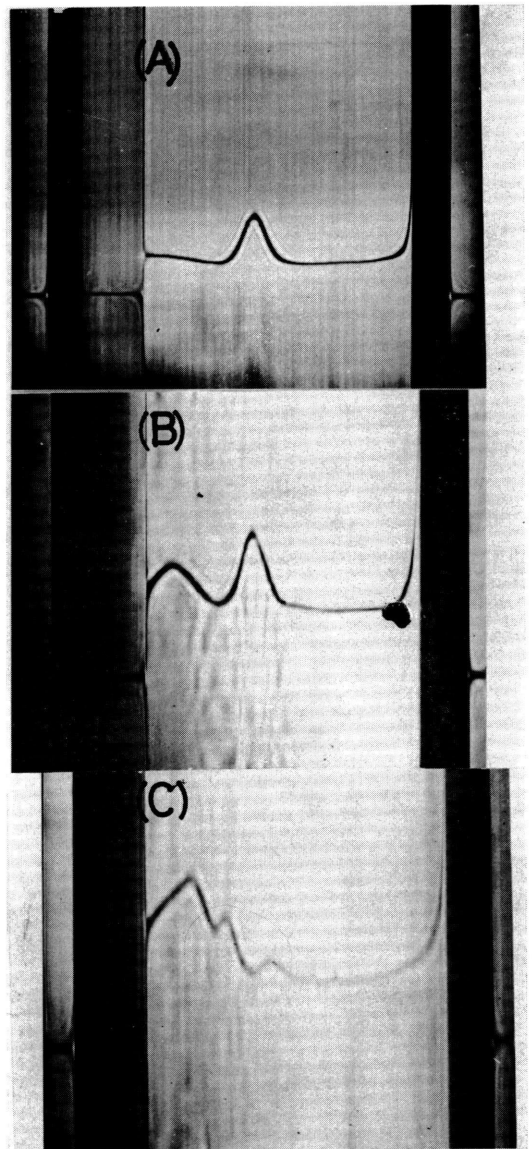


Fig. 4 Ultracentrifugal Pattern of Main Peaks obtained from Acid Precipitated Fractions by the Method of Gel-Filtration on Bio-Gel A-1.5 M Ultracentrifugal runs were made at 55,430 rpm in a single-sector 12-mm cell (18°C). Photographs were taken at 75 min after reaching the enactment speed. (A) : fractions 1-2 of FD (second peak of gel-filtration profile on bio-gel A-1.5 m), 0.3% solution in the pH 8.0 barbital buffered saline ($\mu=0.65$); (B) : fractions 1-4 of FE (first and second peaks of the gel-filtration pattern), 0.6% solution in the pH 8.0 barbital buffered saline ($\mu=0.65$). (C) : FF (0.8 % solution), photograph was at 75 min after reaching the enactment speed ;

心像でその解析をおこなった。すなわち、11S 蛋白質の精製は WIS, FA または FB 画分をその出発材料とする。β-コングリシニンの場合は FC, FD, または FE 画分を出発材料とする。γ-コングリシニンの場合は WIS, FA, FB をその出発材料とすればよい。

謝辞 本研究を行なうにあたって特別研究費を支給していただいた大学当局に謝意を表する。

文 献

- 1) T. B. Osborne, et al : J. Am. Chem. **20**, 419 (1898)
- 2) D. R. Briggs, R. L. Mann : Cereal Chem, **27**, 243 (1950)
- 3) W. E. F. Naismith : Biochem. Biophys. Acta, **16**, 203 (1955)
- 4) W. J. Wolf, D. R. Briggs : Arch. Biochem. Biophys., **63**, 40 (1956)
- 5) W. J. Wolf, A. K. Smith : Food Technol., **15**, 12 (1961)
- 6) W. J. Wolf, D. A. Sly, G. E. Babcock : Cereal Chem., **63**, 40 (1956)
- 7) 宇高京子 : 昭和52年度, 東京大学学位論文
- 8) K. Udaka and C. Fukazawa : Abstract of International Conference on Regulation of Developmental Process in Plants, Halls (Saale) GDR., 1978, p. 10
- 9) 宇高京子, 深沢親房, 原田久也 : 生化学, **49** (8), 737 (1977)
- 10) 宇高京子, 三輪操, 中村恵, 深沢親房 : 生化学, **50**(9), 858 (1978)
- 11) 宇高京子 : 東京家政大学研究紀要 : **16**, 25 (1976)
- 12) 宇高京子 : // : **19**, 21 (1979)
- 13) 宇高京子 : // : **20**, 63 (1980)