

氏名	た なか ひろ ゆき 田 中 裕 之
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	乙第50号
学位授与年月日	平成17年 9月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Genetic diversity of seed storage proteins and the effect of allelic variation on dough strength in common wheat (パンコムギにおける種子貯蔵タンパク質の遺伝的多様性とその対立遺伝子の変異が生地強度へ与える効果)
学位論文審査委員	(主査) 辻 本 壽 (副査) 中 田 昇      田 邊 賢 二 細 木 高 志      高 橋 肇

## 学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

パンコムギの種子貯蔵タンパク質は、小麦粉の品質と加工適性において非常に重要である。これまでに、各品種のもつ種子貯蔵タンパク質は、その遺伝子型に由来して、比率、構造、特性の異なる複雑な混合物であることが明らかにされている。本研究では、種子貯蔵タンパク質の遺伝的多様性に基づいてその構成を改良し、その生地強度に対する影響を評価した。

第1章では、日本のパンコムギ品種のもつグリアジンの電気泳動パターンをA-PAGE法によって決定した。本研究では、107品種を用い、 $\omega$ -グリアジンに13パターン、 $\beta$ 、 $\gamma$ -グリアジンに8パターン、 $\alpha$ -グリアジンに6パターンの合計27パターンを同定した。日本のパンコムギ品種のグリアジンパターンは、他の国のそれとは大きく異なっており、その変異は46パターンに限られていた。日本の7つの地域にみられるグリアジンの保有頻度は異なっていた。グリアジンパターンと高分子量グルテニンサブユニット構成との組み合わせは、67通りあった。 $\omega$ -グリアジンがパターンF、 $\beta$ 、 $\gamma$ -グリアジンがパターンH、 $\alpha$ -グリアジンがパターンDの組み合わせは、日本のパンコムギで高頻度に保有されていたが、その他の各グリアジンパターンの組み合わせは、1または2品種にのみ保有されていた。

第2章では、アジアのパンコムギ品種の低分子量グルテニンサブユニット遺伝子の多様性を解析した。低分子量グルテニンサブユニットの遺伝子座特異的プライマーを用いて行ったPCRの結果、*Glu-A3*座では4個、*Glu-B3*座では4個、*Glu-D3*座では1個の対立遺伝子が見出された。日本のパンコムギ品種における*Glu-A3*座の対立遺伝子頻度は、その他のアジアのパンコムギ品種と比べて非常に異なっていた。3つの*Glu-3*座の対立遺伝子の組み合わせは、15タイプの遺伝子型に分類された。アジアの各地域に由来する各遺伝子型頻度は、様々であった。*Glu-3*座の遺伝子型BAA(*Glu-A3*座がB、*Glu-B3*座が

A、*Glu-D3* 座が A 対立遺伝子)は、多くのアジアのパンコムギ品種でみられた。*Glu-3* 座の遺伝子型 *BBA*、*CAA*、*DBA* は南アジア、北アジア、日本においてそれぞれ高頻度にみられた。さらに、*Glu-3* 座の遺伝子型 *BBA* または *CAA* を保有するパンコムギ品種は、それぞれ特異的な高分子量グルテニンサブユニットとグリアジンの構成をもっていた。DNA の塩基配列を調べた結果、*Glu-A3* 座の対立遺伝子 *B* はシステイン残基を 1 つ余分にもっており、対立遺伝子 *C* は特異的な領域にアミノ酸残基の欠失がみられた。このようなアミノ酸残基の変異は、小麦粉の主要な特性である生地強度に影響を与えると考えられる。

第 3 章では、製パン性を決定する主要因である生地強度に影響を与える種子貯蔵タンパク質を評価した。高製パン性品種の多くは、主要な種子貯蔵タンパク質であるグルテニンの一つ *Glu-D1d* 対立遺伝子を保有している。そこで、この遺伝子を戻し交雑育種法によって日本の主要 4 品種に導入し、それら準同質遺伝子系統の小麦粉の品質を SDS 沈降量によって評価した。その結果、それらの系統の SDS 沈降量は、受容品種である日本の主要品種と比べ、有意に高まった。しかし、そのレベルは *Glu-D1d* 対立遺伝子の提供親のレベルに達していなかった。

第 4 章では、パンコムギにおける低分子量グルテニンサブユニットの生地強度への効果を評価するため、各座特異的プライマーによって増幅された低分子量グルテニンサブユニット遺伝子および、低分子量グルテニン遺伝子と密に連鎖するグリアジンのバンドを解析した。高製パン性品種“ハルヒカリ”と低製パン性品種“アサカゼコムギ”との F<sub>2</sub> による分離比分析の結果、“ハルヒカリ”の *Glu-B3* 座に座乗する 1 つの低分子量グルテニン遺伝子に由来する増幅断片の有無と生地強度との間に有意な相関関係がみられた。今回の交雑組み合わせでは、生地強度のマーカーとして使えるグリアジンのバンドは見出せなかった。上述した“ハルヒカリ”の低分子量グルテニン遺伝子は、“アサカゼコムギ”の低分子量グルテニン遺伝子と比べて、7 個のアミノ酸残基の欠失がみられた。さらに、6 個のアミノ酸残基の置換がみられ、そのうち 3 個のアミノ酸残基は親水性の変化をもたらすと考えられた。この低分子量グルテニン遺伝子およびこれと密に連鎖する他の低分子量グルテニン遺伝子の存在は、小麦粉の生地強度に影響を与えると考えられる。

以上のように、パンコムギが起源地から伝播する過程で、種子貯蔵タンパク遺伝子の多様性は小さくなり、その地域別保有頻度に偏りが生じていることを明らかにした。さらに、種子貯蔵タンパク質遺伝子の導入と遺伝分析によって、その構造が小麦粉の生地強度に及ぼす効果を解析できるだけでなく、小麦粉の品質向上のための育種に貢献できる可能性も示した。

## 論文審査の結果の要旨

パンコムギは世界最重要作物であり、その可食部分である胚乳の貯蔵タンパク質は、人類にとって最も重要なタンパク質であるといえる。このコムギ貯蔵タンパク質は高分子量グルテニン、低分子量グルテニンおよびグリアジンの 3 種に分類することができる。生地作成時には、これらはともに絡み合いグルテンと呼ばれる粘弾性の高いタンパク質複合体になり、パン、麺類、菓子などの用途によって、異なる粘弾性が要求される。このうち、球状構造をもつグリアジンはグル

テンの中でベアリングの働きをして粘性に関わり、バネ状構造をもつグルテニンは、お互いにシステイン残基でS-S結合して複雑なネットワークを形成して、弾性に関わることが知られている。本論文は、世界中から収集した多様なパンコムギ系統および人為交配によって育成した実験系統を用い、種子貯蔵タンパク質が加工適性である製パン性や生地強度に与える影響を、分子遺伝学のおよび生化学的に解析したものである。

本論文は大きく4つの章から構成されている。第一章では、おもに日本のパンコムギのグリアジンの電気泳動パターンをA-PAGE法によって分類した。その結果、これらの品種には、合計27パターン存在し、日本のパンコムギ品種は、他国の品種とは大きく異なっていることがわかった。次に、日本の地域を7品種育成区域に分け、区域毎のグリアジンの保有頻度を調査したが、日本のパンコムギ品種は大きく北東型、南西型の2種に区分できることを示した。

第二章では、材料を日本からアジアに広げ、その低分子量グルテニン遺伝子の多様性を解析した。この分析では、これら遺伝子座特異的プライマーを用いてPCRを行った。この結果もまた、日本のパンコムギ品種が、他のアジア諸国のパンコムギ品種とかなり異なることを示した。また、遺伝子型の組み合わせは、アジアの地域ごとに、その分布が異なっていた。特に、*Glu-A3*座の対立遺伝子には、システイン残基を1つ余分に含む遺伝子、特異的な領域にアミノ酸残基の欠失がある遺伝子があり、このようなアミノ酸残基の変異は、小麦粉の主要な特性である生地強度に大きく影響を与えるものと推察でき、低分子量グルテニンの種類と小麦粉の利用方法の関係について論じた。

第三章では、製パン性の決定に大きく影響を及ぼすことが示唆されている高分子量グルテニンを、精密な実験系統を用いて評価した。高製パン性品種の多くは、高分子量グルテニンの遺伝子*Glu-D1d*対立遺伝子を保有している。そこで、この遺伝子を戻し交雑育種法によって日本の主要4品種に導入した準同質遺伝子系統を用い、遺伝的背景を揃えた状態で、*Glu-D1d*の遺伝子の効果を製パン性における生地強度の簡易測定法であるSDS沈降量によって評価した。その結果、それらの系統のSDS沈降量は、受容品種である日本の主要品種と比べ、有意に高かった。しかし、そのレベルは*Glu-D1d*対立遺伝子の提供親のレベルに達していなかった。このことから、*Glu-D1d*高分子量グルテニンは、製パン性に大きく関わっていることが実験的に証明できたが、それのみでは説明できないことが分かった。そこで、第四章の実験を行った。

第四章では、低分子量グルテニンの生地強度への効果を評価した。しかし、多数の分子種が存在する低分子量グルテニン自身をタンパク質の電気泳動によって解析するのは、実験手法上難しい。そこで、各座特異的プライマーによって増幅された低分子量グルテニン遺伝子および、低分子量グルテニン遺伝子と密に連鎖するグリアジンのバンドを解析した。高製パン性品種“ハルヒカリ”と低製パン性品種“アサカゼコムギ”とのF<sub>2</sub>による分離比分析の結果、“ハルヒカリ”の低分子量グルテニン座の1つの遺伝子に由来する増幅断片の有無と生地強度との間に有意な相関関係がみられた。この結果、低分子量グルテニン遺伝子およびこれと密に連鎖する他の低分子量グルテニン遺伝子やグリアジン遺伝子に由来する種子貯蔵タンパク質が、小麦粉の生地強度に影響を与えると結論付けられた。

今回研究した、高分子量グルテニン、低分子量グルテニンおよびグリアジンは、パンコムギの品種においてきわめて多様であり、またその分布は地域特異的であることが明らかになった。また、遺伝子分析の結果、これらの一部の遺伝子の効果を解析し、その効果を解明することができた。しかし、パンコムギの倍数性、グリアジンとグルテニンにおける多数の遺伝子重複、多くの対立遺伝子の存在のため、これらタンパク質と製パン性の全容を把握ことがきわめて困難であることも浮き彫りにしている。これらの研究結果を育種に結び付けていくためにはまだ、多くの解決すべき課題が存在するが、本研究は、それに向かっての一つの糸口をつけた点で評価でき、学位論文としての水準を上回るものと判断することができた。