

報告番号

※ 甲 第 1767 号

主論文の要旨

題名 Glycine 属植物の種分化に関する
遺伝育種学的研究

氏名 中村 郁郎

主論文の要旨

報告番号

※甲第

号

氏名

中村 郁郎

ダイズは、植物性タンパク質および植物油を生産する作物として最も重要であり、今後、さらに需要が増加することが予想される。このためには既存品種よりも優れた特性を持つ品種の育成することが必要である。現在、ダイズの育種目標として掲げられていることは、種子成分の改良（タンパク質含量の増大、栄養制限アミノ酸のメチオニンおよびシスチン含量の増加、トリプシンインヒビターなどの栄養阻害因子およびリポキシダーゼなどの品質低下を招く因子の遺伝的除去、加工目的にしたがった種子成分組成の変更）、収量性の向上、病虫害抵抗性の付与および栽培適地の拡大などである。このような育種目標を達成するためには、ダイズの起源およびダイズと野生種との類縁関係を解明して、野生種の持つ優れた遺伝子を導入するおよび野生種を手本として新たな育種計画を立案することが必要であると思われる。

ダイズが属している Glycine 属は3亜属10種から構成されている。すなわち、Glycine 亜属には、G.latifolia, G.tabacina, G.clandestina, G.canescens, G.tomentella, G.falcata, G.latro-beana の7種が含まれ、Soja 亜属には、ダイズ(G.max) とツルマメ(G.soja)の2種が含まれ、Bracteata 亜属 は、G.wightii 1種のみから成っている。

ダイズがツルマメから起源したことは多くの研究者が認めている

が、両種はおなじ種であると言われる程類似性が高く、ダイズを大きく改良するための遺伝子源として期待することができない。そこで、ダイズの起源を知り、より遠縁の野生種のもつ優良遺伝子を導入するための方策を開発するためには、ツルマメ（即ち Soja 亜属）の起源を解明することが重要であると思われるが、この点に関してはまだほとんど研究されていない。

本研究は、ダイズ育種のための基礎研究として、Glycine 属 3 亜属 9 種 (G. latrobeana を除く) を供試材料として用い、それらの種子に含まれている特性の異なる 3 種のタンパク質分子種、Kunitz trypsin inhibitor (KTI) 様タンパク質、種子貯蔵グロブリン、種子に含まれる酵素について一連の比較研究を行ない、相互の類縁関係を明らかにすることによって、Glycine 属の種分化—特に、ダイズの起源に関する考え方を提出することを目的として研究を行なった。得られたおもな結果は次のとおりである。

I. Glycine 属 3 亜属 6 種の種子に含まれている KTI 様タンパク質 (KTILP) を DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィー、カゼイン消化法および免疫学的手法を用いて同定した。Glycine および Soja 亜属の KTILP は、抗ダイズ KTI 抗血清に対して免疫反応を示した。Bracteata 亜属においてははっきりとした免疫反応が認められなかったが、カラムからの溶出パターン、阻害活性のパターンお

よび分子量が KTI と類似した成分が認められたので、その成分を Bracteata 亜属の KTILP とした。

Glycine 亜属各種の KTILP には、ゲル電気泳動法にかけると、S および F タンパク質の 2 成分が認められ、F タンパク質はさらに f_1 および f_2 の 2 個のペプチドから構成されていた。Bracteata 亜属の KTILP は、S タンパク質様成分のみを含んでいるという点で、Soja 亜属の KTILP (KTI) と類似していた。

II. Glycine 亜属の KTILP には、ゲル電気泳動法における易動度、S タンパク質と F タンパク質との量比 (S/F 量比) および分子量の 3 つの変異が認められた。そこでこれらの特性を比較することにより Glycine 亜属内の種間・系統間の類縁関係について検討した。また、Glycine 亜属において 2 組の KTILP を含む 2 系統 (G. tabacina, $2n=80$) が見いだされた。このことは、Glycine 属において複二倍体化による進化があることのひとつの証拠であると思われる。

III. ダイズの KTI には、3 つの多型 (Ti^a , Ti^b , Ti^c) が含まれて、ツルマメの KTI には 2 つの多型 (Ti^a , Ti^b) が含まれている。 Ti^a は、両種に高頻度で含まれているが、一方、 Ti^b の存在頻度ははるかに低いことが知られている。そこでこの Ti^b に着目して両種の Ti^b がおなじであるかどうかアミノ酸分析およびシアン化ブロム

による断片化によって調べた。その結果、両種の Ti^b はまったくおなじタンパク質であることがわかり、しかもダイズにおいて Ti^a と Ti^b は独立した8残基で異なっていると報告されていることから、ツルマメからダイズへの進化の道筋は少なくとも2つあると推論した。

IV. インゲンマメ族6属とダイズの種子貯蔵タンパク質を SDS-ゲル電気泳動法を用いて比較した。その結果、Glycine 属以外の属では、ダイズの 11 S グロブリンの酸性サブユニットに相当する成分をほとんど含まないことがわかり、ダイズの起源に Glycine 属以外の種が直接関与した可能性は低いと思われた。ダイズの 11 S 酸性サブユニットはダイズタンパク質が優れていることの大きな要因であるので、今後、このダイズ型の 11 S 酸性サブユニットの成立とダイズの起源との関連が注目される。

V. Glycine 属各種の種子貯蔵タンパク質を詳細に比較検討するために、O'Farrell の2次元電気泳動法を用いてポリペプチドマップを作成して比較した。その結果、7 S グロブリン・サブユニットが Glycine 属の類縁関係を推定するために注目すべき成分であることが認められた。ダイズの 7 S グロブリン・サブユニットには、 α 、 α' および β の3種があるが、分子量および免疫学的には、 α 成分 (α 、 α') および β 成分 (β) の2つに分けられる。Soja

亜属および Bracteata 亜属では両成分が認められたが、Glycine 亜属では供試したすべての種において β 成分を見いだすことができなかった。

VI. ポリペプチドマップ分析により、Glycine 亜属の 7 S α 成分と Soja 亜属の 7 S α' サブユニットが相同であることが認められ、一方、Bracteata 亜属の α 成分と Soja 亜属の α サブユニットが相同であることが認められた。また、2種の試料を混合して泳動を行なって得た合成マップと既存の種のマップと比較したところ、G.tomentellaのマップが G.canescensと G.clandestina との合成マップと僅かな差異を除いてほとんどおなじであることが認められた。このことは、G.tomentellaが G.canescensと G.clandestina との複二倍体化により成立したことを示唆していると考えられる。

VII. 最近、酵素を SDS-ゲル電気泳動法により分離した後、SDS-ゲル中で酵素を再生して活性染色法により検出し、おおよその分子量を推定することができるようになった。そこで、この手法をダイズの種子に含まれる β -アミラーゼに適用できるように実験条件を検討した後、同酵素のアイソザイムを荷電量、分子量および $Sp1$ 遺伝子の3者によって特徴づけようとした。その結果、 β -アミラーゼは分子量の異なる5個ずつのアイソザイムからなるファミリーが $Sp1^a$ および $Sp1^b$ 遺伝子に支配され、両ファミリーのアイソザイ

ムの荷電量がオーバーラップしているために、等電点焦点法で7本、SDS-ゲル電気泳動法2本のバンドが現われることが明らかになった。

VIII. 上述した結果は、酵素の分子量は荷電量よりも変異しにくいことを示している。そこで、進化速度の速い Glycine 属の類縁関係を検討するためには酵素の分子量を比較する方が良いと考えたので、Glycine 属各種の種子に含まれるパーオキシダーゼおよびアミラーゼを SDS-ゲル電気泳動法を用いて比較した。その結果、ダイズのアミラーゼバンドと Glycine 亜属(G.tomentella)が有しているアミラーゼバンドの易動度が一致しており、ダイズのパーオキシダーゼバンドは Bracteata 亜属(G.wightii)が有しているバンドと易動度がほとんど類似していたことはダイズの起源を考察する上で興味深い知見であった。また、この分析の結果、アミラーゼおよびパーオキシダーゼについてそれぞれ7本ずつのバンドが認められた。そこでこの14形質(カテゴリー)として、統計学的な分析(クラスター分析、数量化Ⅲ、Ⅳ類)を行ない、亜属間・種間の類縁関係について論じた。

以上述べてきた3種のタンパク質の比較結果から ”Soja亜属は、Glycine 亜属および Bracteata 亜属の両祖先種の交雑並びにその後の複二倍体化により成立した”との仮説を提出した。この考え方は、ダイズ(Soja亜属)のタンパク質の特性が Glycine および

Bracteata 両亜属のタンパク質が持っている特性を補完していることから考え出されたが、ダイズと Glycine 亜属 (G.tomentella) が交雑できることおよびダイズのフラクシオン・1・タンパク質の小サブユニットの分子量が Glycine 亜属のそれと類似していること、一方、Soja 亜属と Bracteata 亜属の間で形態的な類似性（草型、茎の木質化）が認められることからみて、今後の検討に値するものと思われる。

また、本研究で提出した仮説に基づいて、ダイズの起源地は、Glycine 亜属および Bracteata 亜属の分布範囲が重複している中国南部—東南アジア地域であると推定した。