

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 新畑 智也

論文題目 コムギ澱粉変異体の作出と
その特性に関する研究

論文審査担当者

主査 名古屋大学教授 中野 秀雄
委員 名古屋大学教授 北野 英己
委員 名古屋大学准教授 岩崎 雄吾

論文審査の結果の要旨

新畑智也は、新規な小麦粉の開発を最終目的として、コムギの種子澱粉の合成に関わる2種類の酵素をターゲットに、その変異体開発のための技術基盤の確立と、得られた種子および種子澱粉の特性解析を目的に、研究をおこなった。

研究内容の一番目は、アミロペクチンの側鎖伸長に関与する酵素の1つである、starch synthase IIa (SSIIa) の変異体に関するものである。具体的には、①SSIIa変異体選抜のためのDNAマーカー開発、②SSIIa変異体の澱粉特性の解析を行った。

研究内容の二番目は、SSIIaと、アミロース合成を担うgranule bound starch synthase I (GBSSI)との新規二重変異体における、種子および澱粉特性の解析である。

以下に論文審査の要旨を示す。

1) SSIIa 変異体に関する研究

① SSIIa 変異体選抜のための DNA マーカーの開発

コムギ SSIIa の同祖染色体に由来する3つのアイソザイム(SSIIa-A1、B1 および D1)の欠失型変異体と、その澱粉の基本的性質は、欠失する酵素の数の増加に伴うアミロペクチン側鎖の相対的な短鎖化、そして3つ全てを欠失した完全変異体でのアミロース含量増加(高アミロースコムギ)として知られている。こうした特徴は、食品の加工性や食感の改良をもたらすことが期待されるため、申請者は以下の研究をおこなった。

先ず、SSIIa 変異体の選抜のための共優性 DNA マーカーを開発し、従来法(SDS-PAGEを用いた方法)の課題である、多検体処理が難しい点を解決し、より効率的な判定が可能な方法を構築した。また、この開発過程において、SSIIa の全てを発現する野生型のコムギ品種である、Chinese Spring のゲノムから、野生型 *SSIIa-A1*、*B1* および *D1* 遺伝子をクローニングし、その配列を決定した。次に各酵素を欠失した変異体コムギ系統から、各々の変異型遺伝子をクローニングし、その配列を決定した。その結果、*SSIIa-A1* 遺伝子においては、開始コドン周辺領域の欠失と当該部位における塩基の挿入、*SSIIa-B1* 遺伝子においては、特定のエクソン内への塩基の挿入、*SSIIa-D1* 遺伝子においては、特定のエクソン・イントロンジャンクション部位の欠失があることを明らかとした。これらの情報を元に、申請者が作成した DNA マーカーは、SSIIa 変異体の作出の際に使用され、効率的な選抜技術であることを示した。

② SSIIa 変異体の澱粉特性解析

SSIIa 変異体の澱粉特性に関する従来知見は、食品利用の観点からは十分とは言えず、より詳細な情報が必要であった。このため新畑は、上記の方法で育種選抜された、SSIIa の部分変異体および完全変異体を用いて、その種子澱粉の特性を、野生型である親系統との比較で、詳細に解析した。その結果、従来知見を確認し、さらに以下の知見を得た。即ち、澱粉の糊化ピーク温度、糊化に要する熱量、糊化澱粉の粘度、消化酵素に対する抵抗性、老化特性等を解析した結果、SSIIa アイソザイム間に、SSIIa-B1>D1>A1 の順で、澱粉特性への寄与度に違いがあることが示された。こうした結果は、特定のゲノムに由来する

SSIIa の欠失を指標にした、新しいコムギ原料の開発への道を開いた。

2) GBSSI との新規二重変異体における種子および澱粉特性の解析

コムギにおける GBSSI の完全変異体 (モチコムギ) は既に開発されており、差別化された原料として利用が進んでいる。GBSSI に加え、SSIIa も欠失した二重 (欠失) 変異体は、特徴的な澱粉特性を示すことが予測された。そこで申請者は、モチコムギと高アミロースコムギの交配から選抜された二重変異体の種子特性について、澱粉特性、成分的特性の観点から、その特徴を明らかにした。二重変異体の種子は、登熟過程において開花後 35 日目以降、水分の減少に伴って皺粒になった。成分分析の結果、開花後 25 日目の未熟種子にはスクロースやマルトースの高い蓄積が認められ、コムギでは初めての甘味種となる変異体であることが明らかになった。さらに、完熟した種子では、脂質、食物繊維 (オリゴ糖の一種であるフルクタンを含む)、低分子糖、遊離アミノ酸の蓄積が上昇し、澱粉含量が低くなることを明らかにした。また、その澱粉は、澱粉粒子の変形と微小化が見られ、アミロースは含まれないことを示した。アミロペクチンの構造については、低分子化と側鎖の極端な短鎖化を示した。さらに、低分子量の分岐グルカンおよび直鎖グルカンの存在も示した。

これらの結果から、主要な澱粉合成酵素 2 種の欠失は、種子の形状や成分含量、澱粉の特性に多面的な影響を及ぼすことを明らかにした。最後に、酵素の欠失が引き起こす影響のメカニズムと、この変異体の実用的利用の可能性について考察した。

以上のように、新畑智也は、1)SSIIa 変異体選抜用 DNA マーカーを開発し、このマーカーを用いて選抜された SSIIa 変異体澱粉の特徴を明らかにした。2)GBSSI と SSIIa を欠失した新規二重変異体の、種子における成分的、澱粉構造的解析から、2つの酵素の欠失による種子特性への影響を明らかにした。

本研究によって得られた成果は、澱粉特性に特徴を持つコムギの開発、あるいは新規な用途につながるコムギの開発に向けた科学技術基盤を提供し、今後のコムギ育種や特徴のある小麦粉を使った商品の開発に応用できるものである。よって本委員会は、本論文が博士 (農学) の学位論文として十分価値あるものと認め、論文審査に合格と判定した。

