

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19380006
 研究課題名（和文） 小麦粉品質改良に向けた異種由来種子貯蔵タンパク質の構造解析と育種利用
 研究課題名（英文） Structural analyses of seed storage proteins of wild species for improvement of wheat end-use quality, and its use for breeding
 研究代表者
 辻本 壽 (TSUJIMOTO HISASHI)
 鳥取大学・農学部・教授
 研究者番号：50183075

研究成果の概要（和文）：日本にはパン、めん、菓子など様々な小麦粉加工食品がある。私たちは用途に応じて、生地の強さが違う小麦粉を使い分けている。本研究では、小麦と交配できる野生植物の中から、生地の強さに関係する新たな遺伝子・タンパク質を探した。その結果、生地を飛躍的に強くすることのできる遺伝子をもつ野生植物を見つけたので、これを交配によって小麦に導入した。この品種は強い生地が求められるパンの改良に有用である。

研究成果の概要（英文）：There are a variety of flour processed foods such as bread, noodles and cakes in Japan. We are using flour with different dough strength according to the usage. In this study, we looked for a new gene and the protein that related to dough strength from the wild species that was able to be crossed with wheat. As a result, we found new genes that were able to make the strong dough, and introduced them into wheat by crossing. These cultivars might be useful for the improvement of bread-making from which the strong dough is requested.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	6,400,000	1,920,000	8,320,000
2008年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2009年度	2,800,000	840,000	3,640,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：コムギ、異種染色体添加系統、小麦粉、種子貯蔵タンパク質、製パン性

1. 研究開始当初の背景

- (1) 日本には様々な小麦粉加工食品があり、小麦粉にはそれらに応じた生地強度の強弱が求められている。
- (2) 国内の小麦品種の生地強度は中程度のものが多く、多用な小麦粉加工食品に

対応できる生地強度の強弱幅が確保できていない。

- (3) 研究代表者は、世界の各研究機関で断片的に保存されてきた異種染色体添加小麦系統を収集し、文部科学省ナショナル・バイオリソース・プロジェクト・

コムギのサブ機関として、2003年に「鳥取コムギ異種染色体銀行」を開設した。このような特徴のあるバンクは、世界唯一である。

- (4) 小麦粉の生地強度には胚乳に蓄積される種子貯蔵タンパク質の種類と量が大きく影響する。
- (5) (3) のバンクを利用して、異種植物がもつ種子貯蔵タンパク質の変異を解析すれば、生地強度の強弱幅を広げることができる有用遺伝子をもつ系統を効率的に選抜できると考えた。

2. 研究の目的

- (1) 異種由来種子貯蔵タンパク質およびその遺伝子の構造解析を行う。
- (2) 有望系統について小麦粉の生地強度を調査する。
- (3) 異種染色体の一部を小麦に導入した系統を作る。

3. 研究の方法

- (1) 異種由来種子貯蔵タンパク質の同定
 - ①小麦近縁野生種の染色体を1対ずつ保有する177系統の異種染色体添加小麦系統から、完熟種子の胚乳にある種子貯蔵タンパク質を抽出した。
 - ②種子貯蔵タンパク質を分子量や電荷に基づいた電気泳動法により分離した。
- (2) 小麦粉の網羅的・簡易的品質評価による有望系統の選抜
 - ①177系統の異種染色体添加小麦系統から少量(5g)の小麦粉を調製した。
 - ②生地強度を簡易的に評価できるSDS沈降量とタンパク質含量を測定した。
- (3) 有望系統がもつ異種由来種子貯蔵タンパク質遺伝子のクローニング
 - ①既知の種子貯蔵タンパク質遺伝子の塩基配列をもとにプライマーを作製し、有望系統のゲノムDNAを鋳型としてPCRを行った。
 - ②有望系統に特異的な増幅DNA断片をTAクローニングし、DNAシーケンサーで塩基配列を決定した。
- (4) 有望系統の種子増殖と詳細な小麦粉品質評価
 - ①有望系統を実験圃場で大規模に栽培し、大量の種子を収穫して小麦粉を調製した。
 - ②ミキソグラフにより、生地物性を調査した。
 - ③SE-HPLCにより、生地構造を調査した。
- (5) 異種染色体の一部を小麦に導入した系統の育成
 - ①小麦実験系統Chinese Spring (CS)の1A染色体モノソミック系統を種子親とし、有望系統を花粉親として交配した。

②F₁個体の中から小麦染色体の41本に加え異種染色体が1本添加された個体を選抜し、これらに実用小麦品種の農林61号を戻し交配した。

4. 研究成果

(1) 異種由来種子貯蔵タンパク質の同定

小麦近縁野生種の染色体が1対ずつ添加された177系統の異種染色体添加小麦系統について、種子貯蔵タンパク質の構成を調査した結果、異種由来種子貯蔵タンパク質の多くは、小麦の場合と同様に、第1同祖群染色体に由来していた。例として、図1に小麦近縁野生種 *Aegilops searsii* の染色体が1対ずつ添加された系統がもつ種子貯蔵タンパク質の電気泳動パターンを示す。第1同祖群染色体の1S^sが添加された系統には、遺伝的背景であるCSがもつバンドに加えて、矢印で示したバンドの存在が確認された。

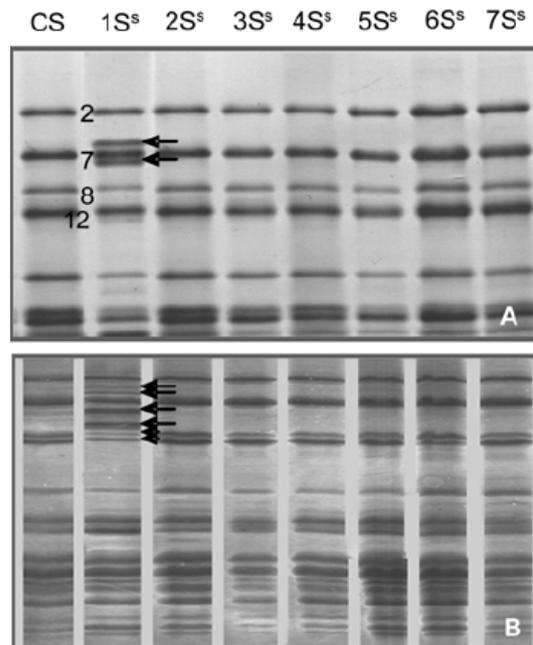


図1. 小麦近縁野生種 *Aegilops searsii* の染色体を1対ずつ保有する系統がもつ種子貯蔵タンパク質 (A:グルテニン; B:グリアジン) の電気泳動パターン

(2) 小麦粉の網羅的・簡易的品質評価による有望系統の選抜

177系統の異種染色体添加小麦系統について、SDS沈降量とタンパク質含量を測定した結果、第1同祖群染色体が添加された系統の中には、CSと比較して2倍以上生地強度が強くなる4系統 (*Thinopyrum elongatum*, *Aegilops searsii*, *Thinopyrum intermedium*, *Aegilops longissima*) を見いだすこと

ができた (図 2)。

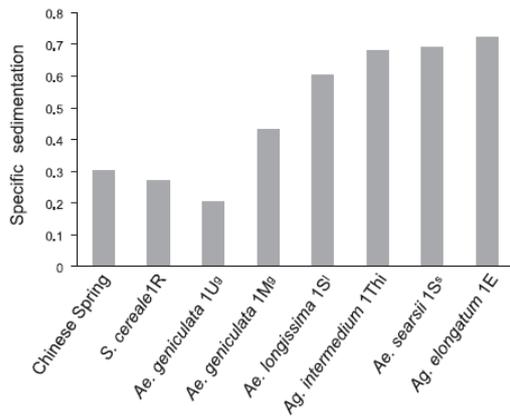


図 2. 第 1 同祖群染色体添加小麦系統の生地強度 (単位タンパク質含量当たりの SDS 沈降量)

(3) 有望系統がもつ異種由来種子貯蔵タンパク質遺伝子のクローニング

決定した塩基配列をもとに、アミノ酸配列を推定し、既知の種子貯蔵タンパク質と比較した。その結果、*Th. elongatum* に由来する種子貯蔵タンパク質では、タンパク質構造を大きく変化させるようなアミノ酸置換がみられた。また、*Ae. searsii* に由来する種子貯蔵タンパク質 (DAL1S^sx, y) は、製パン性に重要な小麦の D ゲノム由来種子貯蔵タンパク質 (1Dx7, y10) と相同性が高かった (図 3)。

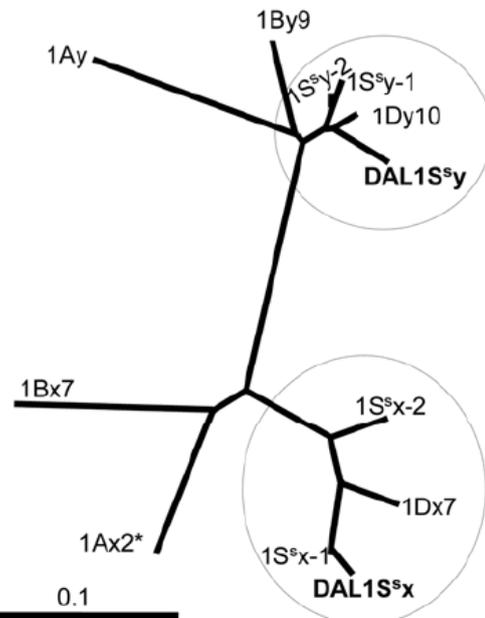


図 3. 種子貯蔵タンパク質遺伝子の分子系統樹

(4) 有望系統の種子増殖と詳細な小麦粉品

質評価

有望系統について、小麦粉品質を詳細に調べた結果、いずれの系統においてもそれらの生地は、種子貯蔵タンパク質がつくる網目構造 (図 4) が巨大化することで、強い生地ができあがっていることが明らかとなった。

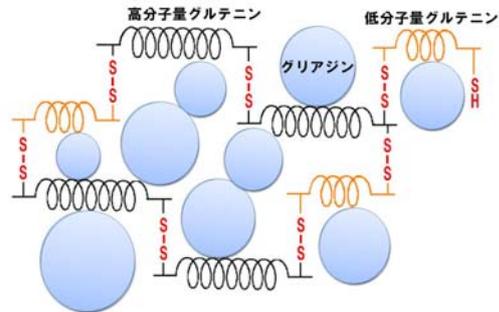


図 4. 種子貯蔵タンパク質の網目構造

(5) 異種染色体の一部を小麦に導入した系統の育成

有望系統において、異種染色体の種子貯蔵タンパク質遺伝子座以外の領域には、農業形質上好ましくない遺伝子が座乗する。そこで、CS の 1A 染色体モノソミック系統との交配の結果、一価染色体の誤分裂による小麦・*Th. elongatum* 染色体間ロバートソン型転座を誘発することができた。図 5 において、*Th. elongatum* の 1E 染色体 (緑色) の片腕が小麦の染色体 (青色) の片腕に転座したことが確認できる (矢印)。

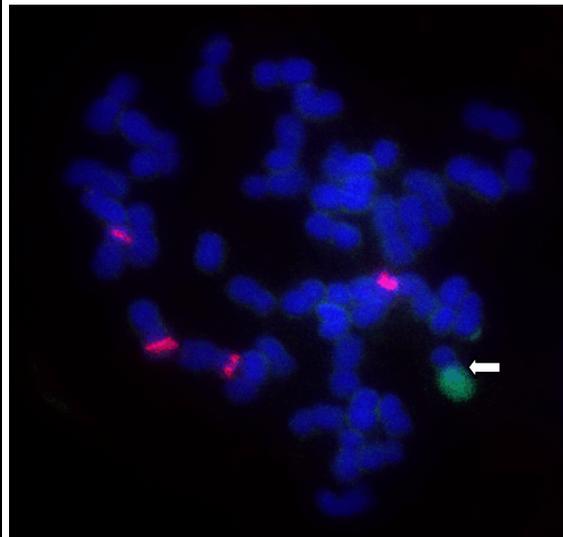


図 5. 小麦・*Th. elongatum* 染色体間ロバートソン型転座を誘発できた系統の体細胞染色体

さらに、現在、農林 61 号による連続戻し交配を通して、遺伝的背景を実験系統から実用品種へ置き換えることを試

みている。これにより育成される系統は、小麦粉の生地強度を飛躍的に強くする異種由来種子貯蔵タンパク質遺伝子が導入されており、農業形質も実用品種に近く、小麦粉品質向上のための有用な小麦育種素材として、交配母本に利用されることが期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① M. Garg, H. Tanaka, H. Tsujimoto (2009)
Exploration of Triticeae seed storage proteins for improvement of wheat end-product quality. *Breeding Science* 59: 519-528. 査読有り
- ② M. Garg, H. Tanaka, N. Ishikawa, K. Takata, M. Yanaka, H. Tsujimoto (2009)
Agropyron elongatum HMW-glutenins have a potential to improve wheat end product quality through targeted chromosome introgression. *Journal of Cereal Science* 50: 358-363. 査読有り
- ③ M. Garg, H. Tanaka, N. Ishikawa, K. Takata, M. Yanaka, H. Tsujimoto (2009)
A novel pair of HMW glutenin subunits from *Aegilops searsii* improves quality of hexaploid wheat. *Cereal Chemistry* 86(1): 26-32. 査読有り

[学会発表] (計6件)

- ① M. Garg, H. Tanaka, H. Tsujimoto:
Exploration of Triticeae resource for wheat end product quality improvement. 6th International Triticeae Symposium. 2009年5月31日~6月5日(京都大学)
- ② M. Garg, H. Tanaka, H. Tsujimoto:
Utilizing variation of *Agropyron elongatum* and *Aegilops geniculata* for wheat end product quality improvement: Challenges ahead. *Chromosome Science* Volume 11 Supplement 2008: 54-55. The 3rd Asian Chromosome Colloquium. 2008年12月1~4日(大阪大学)
- ③ M. Garg, H. Tanaka, H. Tsujimoto:
Exploitation of the variation of *Agropyron elongatum* and *Aegilops geniculata* for improvement of bread making quality. The Triticeae Meeting of Japan, 2008. Wheat Information Service. 2008年11月6日(倉敷).
- ④ M. Garg, H. Tanaka, N. Ishikawa, K. Takata, M. Yanaka, H. Tsujimoto:
Seed storage proteins in Triticeae: a novel source of variation for improvement of

wheat flour quality. The Triticeae Meeting of Japan, 2007. Wheat Information Service. 2007年11月17・18日(福山).

- ⑤ M. Garg, H. Tanaka, H. Tsujimoto:
Novel seed storage proteins of *Aegilops longissima* have potential for end product quality improvement in wheat. *CEREAL FOODS WORLD Supplement* Vol. 52, No. 4, A18. 2007年10月7-10日(アメリカ合衆国テキサス州サンアントニオ).
- ⑥ M. Garg, H. Tanaka, H. Tsujimoto:
Seed storage proteins in Triticeae: a novel source of variation for improvement of wheat flour quality. 育種学研究第9巻別冊2号, p. 143 (2007). 2007年9月22・23日(山形大学).

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
辻本 壽 (TSUJIMOTO HISASHI)
鳥取大学・農学部・教授
研究者番号: 5 0 1 8 3 0 7 5
- (2) 研究分担者
田中 裕之 (TANAKA HIROYUKI)
鳥取大学・農学部・准教授
研究者番号: 7 0 2 8 3 9 7 6
(H20→H21: 連携研究者)
- (3) 連携研究者
()

研究者番号: