

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：21401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14438

研究課題名(和文) 複数の枝作り酵素を欠損させた米澱粉の構造と酵素間相互作用から導く澱粉構造制御機構

研究課題名(英文) Elucidating the control mechanisms of starch structure through the analyses of starch structure and protein interaction using starch branching enzyme deficient mutant rice lines.

研究代表者

クロフツ 尚子 (CROFTS, Naoko)

秋田県立大学・生物資源科学部・研究員

研究者番号：30583330

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：イネ種子の澱粉構造の制御機構を解明するため、3種のBE (Branching Enzyme; BEI, BEIIa, BEIIb) のうち2つのBEを同時に欠損させたイネ変異体を作成し、残り一つとなったBEの役割を明確に示した。be1/be2bの種子は白濁し、超高アミロース(約52%)で、難消化性澱粉含量が非常に高かった(WTの175倍)。be1/be2aの種子は透明で、野生型に近いbe1変異体と同様の澱粉構造を示した。一方、be2a/be2bは不稔性が極めて強く、次世代の種子はほとんど稔らなかった。これらのことから、BEアイソザイムには特異的な機能と相補可能な機能があることが明確になった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

澱粉の枝作り酵素(Branching enzyme; BE)は3種類あり、そのバランスが澱粉特性や米の用途を左右する。BEの相補関係を明確にするため、本研究では、2つのBEを同時に欠損させることで、残り一つとなったBEの役割を明確にした。be1/be2bの種子は白濁し、超高アミロース(約52%)で、難消化性澱粉含量が非常に高かった(WTの175倍)。BEIIaが存在することで、コメの収量を維持しつつ、腸内環境の改善や血糖値の急激な上昇を抑制する難消化性澱粉の含量を増やすことができることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：To understand the control mechanisms of starch structure, the roles of starch branching enzymes were revealed by analyzing the rice mutant lines in which two out of three starch branching isozymes were omitted. be1/be2b mutant rice had opaque seeds with high amylose (52%) and high resistant starch content (175 folds of WT). be1/be2a mutant rice had translucent seeds and its starch properties were similar to the be1 single mutant rice or WT rice. While, be2a/be2b mutant were essentially sterile. These results suggest that the role of each BE isozyme is partly specific, but can be compensated by other isozymes to some degree.

研究分野：澱粉合成

キーワード：イネ 澱粉 枝作り酵素 アミロース 難消化性澱粉

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

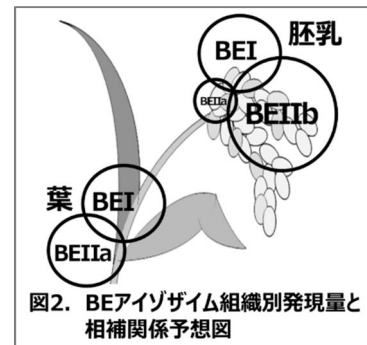
澱粉はグルコースポリマーである直鎖のアミロースと規則的な枝分かれ構造をもつアミロペクチンから構成され、アミロペクチンが澱粉の大部分を占める(図1)。アミロースとアミロペクチンの割合や、アミロペクチンの枝の長さや位置・頻度の違いが、穀類の物性・食味・利用用途を大きく左右する(図1)。そのため、澱粉の構造や特性を決定する分子メカニズムの解明が求められている。

アミロペクチンは、それぞれ複数のアイソザイムから構成される澱粉直鎖伸長酵素(Starch synthase: SS)、澱粉枝作り酵素(Branching Enzyme: BE)、澱粉枝切り酵素(Debranching Enzyme: DBE)が相互作用して合成されると考えられており、その中でもBE(BE1, BEIIa, BEIIb)はアミロペクチンの枝を形成する最も重要な働きを担っている。

3種のBEは、組織による発現強度・相互作用する相手・好む基質および産物の長さが異なり(図2)、BEアイソザイムが欠失したイネ変異体は以下の特徴を持つ。

- 1) BE1が欠失すると種子の外観は野生型と同様であるが、アミロペクチン短鎖が増加し、アミロペクチン長鎖が減少する(Satoh et al., 2003)。
- 2) BEIIbが欠失すると、種子は白濁し、アミロペクチン長鎖、アミロース、難消化性澱粉含量が増加する(Nishi et al., 2001; Tsuiki et al., 2016)。
- 3) BEIIaが欠失しても、種子形態や澱粉構造に大きな変化は見られない(Nakamura, 2002)。

以上のことから、3種のBEは互いに機能を相補していると推測される(図2)。これらの知見を基に、複数のBEを完全に欠損させるとBE間の特異性や相補作用を明らかにできると考え、交配によりBE二重変異体を作成した。*be1 be2b*と*be1 be2a*イネ変異体は稔実したが、*be2a be2b*は稔性が極めて悪かった。そのため、BEIIaも何らかの役割を担っていると推測された。



2. 研究の目的

本研究の目的は、3種のイネ澱粉枝作り酵素(Branching Enzyme; BE1, BEIIa, BEIIb)の相補関係を明確にすることである。3種のBEは、先に述べたように、組織による発現強度・相互作用する相手・形成する枝の長さが異なり、そのバランスが澱粉の枝の長さ・位置・頻度に影響し、澱粉特性や米の用途を左右する。いずれかのBEが欠損すると、残りのBEアイソザイムが機能の一部を相補すると推測されるが、澱粉構造の制御機構を解明するためには、BEアイソザイムの相補関係を明確にする必要がある。

本研究では、二つのBEを同時に欠損させることで、残り一つとなったBEの役割を明確に示す。具体的には、*be1 be2b*と*be1 be2a*イネ変異体の澱粉構造と澱粉特性を明らかにすることで、シングル変異体や精製酵素を用いた*in vitro*実験では分からなかった、複数のBEアイソザイム間の相補作用を明確にする。「どのBEが、どの長さの枝を形成し、その結果、澱粉の特性がどのように変わるか」を明確にすると、澱粉構造を制御する分子メカニズムの解明に直結し、その知見は用途に最適な澱粉の作出につながると期待される。

3. 研究の方法

- (1) 遺伝子型の解析: 幼苗から抽出したDNAを用いて、dCAPS法を用いて解析した。
- (2) タンパク質の解析: 登熟種子から抽出した総タンパク質と澱粉生合成関連酵素特異的抗体を用いて、ウエスタンブロットを行った。また、可溶性タンパク質を用いて、Native-PAGE活性染色法を行った。
- (3) *be1 be2b*と*be1 be2a*イネ変異体の完熟種子を用いて以下の実験を行った。
稔実率と種子重量: 種子重量は玄米50粒の平均を算出した。稔実率は、平均的な一株から得られたすべての籾(約千籾)を稔実籾と空籾に分け、その数を数え、算出した。
種子と澱粉粒の形態観察: 精製澱粉を金蒸着し、走査型電子顕微鏡で観察した。
アミロペクチンの鎖長分布解析: 完熟種子から抽出した澱粉をイソアミラーゼで枝切り後、蛍光標識し、キャピラリー電気泳動法を用いて分析した。
熱糊化特性解析: 完熟種子から精製した澱粉を用いて、示差走査熱量法で測定した。
澱粉の結晶性解析: 完熟種子から精製した澱粉を用いて、X線回折法で測定した。
アミロース含量の測定: 完熟種子から抽出した澱粉をイソアミラーゼで枝切り後、ゲル濾過法を用いて測定し、澱粉に占める見かけのアミロース含量を算出した。
難消化性澱粉含量の測定: 炊飯米や米粉を α アミラーゼとグルコアミラーゼを含む消化液で消化後、難消化性澱粉を含む残渣をグルコースに変換し、比色分析法で定量した。

4. 研究成果

(1) 遺伝子型の解析

be1, *be2a*, *be2b* の変異箇所を特異的に認識する分子マーカーを作成した。*be1 be2b* および *be1 be2a* 幼苗から抽出した DNA を用いて、それぞれの変異体が目的の遺伝子型を持つことを確認した。

(2) タンパク質の解析

完熟種子から抽出した総タンパク質と澱粉性合成関連酵素特異的抗体を用いてウエスタンブロットを行った。*be1 be2b* は BEI と BEIIb タンパク質が欠失していること、*be1 be2a* では BEI タンパク質の欠失が認められた。*be2a* は、BEIIa タンパク質は発現するものの酵素活性を示さない変異である。そのため、登熟種子から抽出した可溶性タンパク質を用いて、Native-PAGE 活性染色法を行った。その結果、*be1 be2a* では BEIIa 活性が無いことが認められた。

(3) 完熟種子の解析 (表 1)

稔実率:

野生型は約 90% の粒が稔実していた。シングル変異体の稔実率は、*be1* が 72%、*be2a* が 79%、*be2b* が 86% であり、若干低下した。一方、二重変異体の稔実率は、*be1 be2b* は 92% と稔実率が良かったものの、*be1 be2a* は 55% と大幅に低下した。*be2a be2b* の稔実率は数% と極端に低かった。これらのことから、種子形成には BEIIa のみが存在すれば十分であることが明らかになった。また、BEIIb のみでは稔性が大幅に低下し、BEI のみでは種子形成に異常をきたすことも明確になった。今後、BEIIa または BEIIb が種子形成のどの段階 (花粉の澱粉合成、花粉の発芽時の澱粉分解、胚乳の澱粉合成) に必須であるのかを明確にする必要がある。

種子重量:

野生型の種子重量は 20~21 mg/粒であり、シングル変異体の種子重量は *be1* が 20 mg/粒、*be2a* が 21 mg/粒 79%、*be2b* が 11 mg/粒であった。二重変異体の種子重量は、*be1 be2b* は 12 mg/粒であり、*be1 be2a* は 22 mg/粒であった。*be2b* の種子重量は野生型と比較して顕著に低下した。一方、*be1 be2b* は *be2b* と比較して種子重量と稔性の両方が高く、株あたりの収量は *be1 be2b* は *be2b* の 117% と格段に改善がみられた。種子重量が高い *be1 be2a* は稔実率が低下したため株あたりの収量は *be1 be2b* と同等であった。澱粉合成にかかわる複数の酵素が欠失するとシングル変異体よりも収量が改善することは、*ss3a be2b*、*ss1^L be2b*、*be2b isal* などのこれまでの我々の研究からも見出されており、澱粉合成には酵素の力関係のバランスが重要であると言える。

種子形態:

野生型、*be1*、*be2a*、*be1 be2a* は半透明な整粒であったが、*be2b* と *be1 be2b* は白濁していた (図 3 上)。

澱粉形態: 野生型、*be1*、*be2a*、*be1 be2a* は多角形の澱粉粒が観察された。一方、*be2b* と *be1 be2b* は丸みを帯びた巨大な澱粉粒が観察され、*be2b* には比較的小さな澱粉粒も観察されたが、*be1 be2b* はほとんどが大きな澱粉粒であった (図 3 下)。種子が白濁する原因は大きな澱粉粒がゆるく詰まり、澱粉粒の間で光が乱反射しているからだと考えられる。

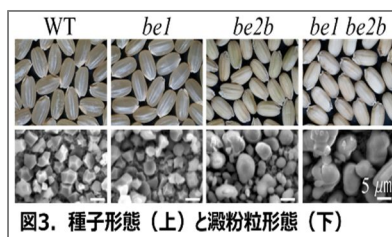


図3. 種子形態 (上) と澱粉粒形態 (下)

アミロペクチンの鎖長分布:

野生型と比較して、*be1* はアミロペクチン短鎖 (グルコース重合度 (DP) < 10 が微増する (Sato et al., 2003)、*be2a* のアミロペクチン鎖長構造は野生型と変わらず (Nakamura., 2002)、一方、*be2b* は野生型よりもアミロペクチン短鎖 (DP < 17) が激減し、アミロペクチン長鎖 (DP < 35) が増加する (Nishi et al., 2001)。

本研究で *be1 be2b* のアミロペクチン構造を分析したところ、*be1 be2b* は *be2b* よりもさらに大幅にアミロペクチン短鎖が減少していた (図 4)。特に、DP 10~20 の減少幅は *be2b* よりも大きく (図 4)、鎖長のより長いアミロペクチン長鎖 (DP < 40) の割合が増加した。BEIIb が欠失するとアミロペクチンの分岐構造が劇的に変化することから、これまで BEI と BEIIa は BEIIb の機能を相補できないと考えられてきた。しかし、*be1 be2b* の鎖長分布から、BEIIa は BEIIb の機能であるアミロペクチン短鎖形成の一部を補うことが明らかになった。

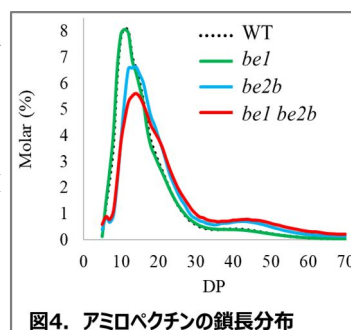


図4. アミロペクチンの鎖長分布

一方、*be1 be2a* は *be1* と比べてアミロペクチン短鎖 (DP < 10) の割合が微増したものの、野生型に近いアミロペクチン構造を示した。このことから、イネ胚乳アミロペクチンの分岐鎖形成において、BEIIb は主要な役割を担っており、BEIIb のみでも野生型に近い構造のアミロペクチンを合成できることが明らかになった。また、*be1 be2a* では *be1* と比べて、わずかながらアミロペクチン短鎖が増加した。このことから、BEI が欠失した状態でさらに BEIIa が欠失すると、BEIIb の機能が相対的に高まり、短鎖が微増した可能性が考えられる。

熱糊化特性：

糊化ピーク温度は野生型が 58、*be1* が 54、*be2a* が 58、*be2b* が 69 であった。*be1 be2b* の糊化ピーク温度は 77 と非常に高かった。一方、*be1 be2a* は 57 と野生型に近い値であった。アミロペクチンの鎖長分布の違いは澱粉の糊化温度に直結し、短鎖が増えると糊化温度が低く、長鎖が増えると糊化温度が高くなると考えられている。*be1 be2b* の糊化ピーク温度が *be2b* よりも大幅に高くなった理由は、より長い長鎖の割合が増加したからだと考えられる。

澱粉の結晶性解析：

澱粉の結晶性は、野生型、*be1*、*be2a*、*be1 be2a* は複数のピークが出る典型的な A 型結晶を示した。一方、*be2b* と *be1 be2b* は特徴的なシングルピークが出る典型的な B 型結晶を示した (図 5)。澱粉の結晶性はアミロペクチンの二重螺旋や水分子の分布が異なることに起因すると考えられている。そのため、分岐差が比較的多い野生型、*be1*、*be2a*、*be1 be2a* と、分岐鎖が比較的に少ない *be2b*、*be1 be2b* では二重螺旋の長さが異なると考えられる。

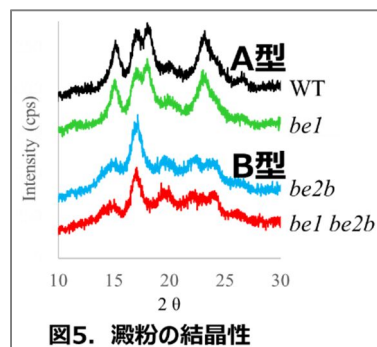


図5. 澱粉の結晶性

アミロース含量の測定：

野生型および *be1* のアミロース含量はいずれも 21% であり、*be2a* と *be1 be2a* のアミロース含量は 17% であった。一方、*be2b* は高アミロース (27%) となり、驚くことに *be1 be2b* のアミロース含量は 52% とイネ変異体の既報最大アミロース値を大幅に更新した。その理由はおそらく、イネ胚乳アミロペクチンの主要な分岐鎖形成酵素である BEIIb が欠失したことにより、アミロペクチン合成が縮小し、その結果、基質となる ADP-glucose が余り、それとともに、アミロースを合成する澱粉粒結合型合成酵素の発現量も増加したため、高アミロースになったと考えられる。BEIIa と BEIIb の両方が欠失すると、アミロペクチンの短鎖を作る酵素が無くなりアミロペクチン合成がさらに縮小するため、*be1 be2b* は *be2b* よりもアミロース含量が格段に増強したと考えられる。

難消化性澱粉含量の測定：

実際の使用形態を想定し、炊飯精白米 (全粒とペースト) および米粉 (生米粉・糊化米粉) を用いて、難消化性澱粉含量を測定した。咀嚼効率は人によって大きな幅があるため、完全に咀嚼された状態を反映したペースト状、まったく咀嚼されなかった状態を反映した全粒を用いて実験を行った。また、調理方法により糊化の度合いが異なるため、生米粉と糊化米粉を用いて実験を行った。実際の値はこれらの値の範疇に納まると考えられる。

生米粉の難消化性澱粉含量を表 1 に示した。野生型と *be1* の難消化性澱粉含量は低い (< 0.2%) が、*be2b* は高く (12%)、*be1 be2b* は 35% と非常に高い値を示した。野生型の難消化性澱粉含量は糊化米粉が 0.9%、炊飯米ペーストが 0.9%、生米粉が 0.2%、炊飯米全粒が 1.3% といずれも低い値を示したのに対し、*be1 be2b* の難消化性澱粉含量は、糊化米粉が 27%、炊飯米ペーストが 28%、生米粉が 35%、炊飯米全粒が 76% といずれも非常に高い値であった。いずれの処理方法においても、*be2b* よりも *be1 be2b* の方が、2.8~6.6 倍も難消化性澱粉含量が格段に高かった。アミロペクチンが長い螺旋構造を形成すると、消化酵素によって消化されにくくなるため難消化性澱粉含量が増加すると考えられ、アミロース含量が高いことに加えて、アミロペクチン長鎖の割合が高いことが、澱粉の難消化性澱粉含量の増加に大きく影響すると示唆された。

表 1：枝作り酵素 (BE) 欠失イネ変異体の澱粉特性

	稔実率 (%)	種子重量 (mg/粒)	アミロペクチン構造	糊化温度 (°C)	結晶性	アミロース (%)	生米粉の難消化性澱粉 (%)
WT	91	21	WT	58	A	21	< 0.2
<i>be1</i>	72	20	短鎖	54	A	21	< 0.2
<i>be2a</i>	79	21	WT	58	A	17	ND
<i>be2b</i>	86	11	短鎖 長鎖	69	B	27	12
<i>be1 be2a</i>	55	22	短鎖	57	A	17	ND
<i>be1 be2b</i>	92	12	短鎖 長鎖	77	B	52	35

大腸菌で発現し精製した酵素を用いた *in vitro* 実験では、BEI は DP 40 以下の幅広い長さの分岐鎖を形成し、BEIIa は DP 6-15 の、BEIIb は DP 6-7 の短鎖を形成することが明らかになっている (Nakamura et al., 2010)。また、BEIIa と BEIIb はアミロペクチンのような分岐グルカンのみを基質とするが、BEI はアミロースのような直鎖グルカンも基質とできる (Nakamura et al., 2010)。実際のイネ胚乳の澱粉合成においては、BE が形成した枝を SS が伸長し、不要な枝は DBE によって除去されるため、BE が形成する枝の長さが、必ずしも最終的なアミロペクチンの分岐鎖の長さというわけではない。

BEI と BEIIb を同時に欠失させ BEIIa のみを機能させた *be1 be2b* は、BEI と BEIIa が発現している *be2b* と比較して、DP 10-20 が減少し DP 35 以上の鎖長の長いアミロペクチン長鎖が増加することが明らかになった。このことから、BEIIb 欠失下では BEI が DP 10-20 の分岐鎖形成に参与した可能性も考えられ、それは *in vitro* 実験の結果と矛盾がない。もう一つの考え方として、BEIIa は DP10-20 の分岐鎖の形成が得意ではないと捉えることもできる。つまり、*be1 be2b* では、BEIIa が形成した分岐鎖を SS が DP 35 以上に伸長するが、グルカン鎖が長くなりすぎたため BEIIa の基質にはなりえなかったと推測できる。*be2b* では、長く伸長されたグルカン鎖は、BEI の基質となりうるため、DP 10-20 の割合が *be1 be2b* よりも多いと考えられる。

be1 be2b が特徴的な澱粉構造を示したことは、アミロペクチンの長鎖の増加によって大部分が説明できる。長いアミロペクチンが螺旋構造を形成したことで、糊化温度が上昇し、また、難消化性になった。さらに、アミロペクチン合成が縮小したため、余剰基質がアミロース合成を促進した。高アミロースになったことで、アミロースとアミロペクチン長鎖との螺旋も形成され、より消化しにくい澱粉が形成されたのかもしれない。

BEI と BEIIa を同時に欠失させ、BEIIb のみを機能させた *be1 be2a* は、*be1* の特徴であるアミロペクチン短鎖の微増がみられたものの、全体的なアミロペクチンの構造は *be1 be2b* よりも格段に野生型に近かった。このことから、イネ胚乳においては BEIIb が主要な働きを担っており、BEIIb は BEI の長鎖形成機能を相補できると言える。BEIIa がどの程度イネ胚乳澱粉の形成に貢献しているのかは不明であるが、何らかの機能があるのであれば、BEIIb は BEIIa の機能も補うことが可能だと考えられる。BEI のみが発現した *be2a be2b* は稔性が非常に悪いため、BEIIa または BEIIb がイネ種子の形成には必須であり、BEIIa と BEIIb の機能は BEI では相補できないことが明らかになった。さらに、*be1 be2b* は *be2b* よりもアミロペクチンの短鎖が減少し、長鎖含量が増した。そのため、BEI は BEIIb の分岐鎖形成の一部を相補できると考えられる。

以上の考えをまとめ、イネ胚乳澱粉合成における BE アイソザイムの貢献度と相補関係を模式図で示した (図 6)。BE アイソザイムの貢献度は $BEIIb \gg BEI > BEIIa$ であることを文字の大きさと表現した。また、矢印の太さは BE アイソザイムの相補関係を表し、BEIIb は BEI や BEIIa の働きの大部分を相補できること、BEIIa は BEI と BEIIb の機能の一部を相補すること、BEI は BEIIb の機能をごくわずかに相補するが、BEIIa の機能はほとんど相補できないことを示した。

今後、これらの BE 二重変異体をもちいて、唯一残された BE アイソザイムが、SS などの澱粉生合成関連酵素とどのように相互作用しているのかを明確にすることで、直鎖伸長酵素と枝作り酵素と枝切り酵素のバランスとアミロペクチン構造の関係性が明確になると推測される。また、澱粉合成にかかわる酵素は、複数のアイソザイムから構成され、アイソザイムによって好む基質や発現組織が異なる。そのため、*be1 be2b*、*be1 be2a*、*be2a be2b* イネ二重変異体において、胚乳以外の器官 (花粉・葉身・葉鞘など) に蓄積された澱粉の構造や各アイソザイムの発現量を明確にすることで、アミロペクチン構造のより詳細な制御機構の解明につなげたい。



< 引用文献 >

- Hikaru Satoh, Aiko Nishi, Naoko Fujita, Akiko Kubo, Yasunori Nakamura, Tsutomu Kawasaki, Thomas W. Okita (2003) "Isolation and Characterization of Starch Mutants in Rice. *Journal of Applied Glycoscience*" 50, 225-230.
- Aiko Nishi, Yasunori Nakamura, Naoki Tanaka, Hikaru Satoh (2001) "Biochemical and Genetic Analysis of the Effects of *Amylose-Extender* Mutation in Rice Endosperm" *Plant Physiology* 127, 459-472.
- Kaori Tsuiki, Haruka Fujisawa, Ayaka Itoh, Masao Sato, Naoko Fujita (2016) "Alterations of Starch Structure Lead to Increased Resistant Starch of Steamed Rice: Identification of High Resistant Starch Rice Lines. *Journal of Cereal Science* 68, 88-92.
- Nakamura, 2002 "Towards a Better Understanding of the Metabolic System for Amylopectin Biosynthesis in Plants: Rice Endosperm as a Model Tissue." *Plant and Cell Physiology* 43, 718-725
- Yasunori Nakamura, Yoshinori Utsumi, Takayuki Sawada, Satomi Aihara, Chikako Utsumi, Mayumi Yoshida, Shinichi Kitamura (2010) "Characterization of the Reactions of Starch Branching Enzymes from Rice Endosperm" 51, 776-794

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Crofts Naoko, Iizuka Yuriko, Abe Natsuko, Miura Satoko, Kikuchi Kana, Matsushima Ryo, Fujita Naoko	4. 巻 9
2. 論文標題 Rice Mutants Lacking Starch Synthase I or Branching Enzyme IIb Activity Altered Starch Biosynthetic Protein Complexes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1817
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.3389/fpls.2018.01817	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 クロフツ尚子, 三浦聡子, 林真里, 阿部奈津子, 飯塚悠莉子, 追留那緒子, 藤田直子	4. 巻 9
2. 論文標題 変異体米を用いたイネ澱粉生成関連酵素の酵素複合体の解析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 応用糖質科学	6. 最初と最後の頁 76～82
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 クロフツ尚子	4. 巻 10
2. 論文標題 米の澱粉構造制御機構の解明に向けて：澱粉生成過程で形成される酵素複合体の解明	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 応用糖質科学	6. 最初と最後の頁 29～35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 藤田直子, 三浦聡子, クロフツ尚子, 中村保典	4. 巻 6
2. 論文標題 分子マーカーを用いたイネ品種育成と品種鑑定	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 秋田県立大学ウェブジャーナルB	6. 最初と最後の頁 58～62
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三浦聡子, 幸山奈那, クロフツ尚子, 保坂優子, 阿部美里, 藤田直子
2. 発表標題 イネの枝作り酵素BEIおよびBEIIbの二重変異体#1403の作出と澱粉特性解析
3. 学会等名 第67回 日本応用糖質科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 クロフツ尚子, 三浦聡子, 林真里, 阿部奈津子, 飯塚悠莉子, 追留那緒子, 藤田直子
2. 発表標題 変異体米を用いたイネ澱粉生合成関連酵素の酵素複合体の解析
3. 学会等名 第67回 日本応用糖質科学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三浦聡子, 幸山奈那, クロフツ尚子, 保坂優子, 阿部美里, 藤田直子
2. 発表標題 イネの枝作り酵素(BE)の二重欠損が稔実性に及ぼす影
3. 学会等名 第135回 日本育種学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川本朋彦, 加藤和直, 高橋竜一, 高橋里夫, 保坂優子, 阿部美里, クロフツ尚子, 三浦聡子, 追留 那緒子, 藤田直子
2. 発表標題 難消化性澱粉を多く含む米系統の実用化に向けて. 農業形質、澱粉構造
3. 学会等名 第135回 日本育種学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三浦聡子, クロフツ尚子, 保坂優子, 松島良, 和田卓也, 藤田直子
2. 発表標題 難消化性澱粉(RS)を多く含む「ちくし粉85号」の胚乳澱粉及び澱粉生合成関連酵素の解析
3. 学会等名 第11回 日本応用糖質科学会 東北支部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三浦聡子, 菊池佳奈, クロフツ尚子, 保坂優子, 阿部美里, 松島良, 藤田直子
2. 発表標題 難消化性澱粉を多く含み, 澱粉構造が異なる5つの枝作り酵素 (BE) IIb変異体米の解析
3. 学会等名 第68回 日本応用糖質科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和田卓也, 松島良, 藤田直子, 三浦聡子, クロフツ尚子, 保坂優子, 永松志郎, 熊丸敏博
2. 発表標題 難消化性澱粉を保有するイネ澱粉構造変異系統の胚乳特性解析
3. 学会等名 第68回 日本応用糖質科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 クロフツ尚子
2. 発表標題 “米の澱粉構造制御機構の解明に向けて：澱粉生合成過程で形成される酵素複合体の解明
3. 学会等名 第68回 日本応用糖質科学会 奨励賞受賞講演（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoko Crofts, Yuriko Iizuka, Natsuko Abe, Satoko Miura, Ryo Matsushima, Naoko Fujita
2. 発表標題 Loss of branching enzyme IIb activity altered starch biosynthetic protein complexes in rice endosperm.
3. 学会等名 Starch Round Table 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三浦聡子, 幸山奈那, クロフツ尚子, 保坂優子, 阿部美里, 藤田直子
2. 発表標題 枝作り酵素 (BE) IとIIbが 欠損した二重変異体米の胚乳澱粉とレジスタントスターチ (RS) の特性
3. 学会等名 第137回 日本育種学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 難消化性澱粉高含有イネ変異体、米粉、難消化性澱粉、米ゲル、食品、食感改良剤、及び難消化性澱粉高含有イネ変異体の作出方	発明者 藤田直子, クロフツ尚子, 三浦聡	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-13897	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	藤田 直子 (Fujita Naoko) (90315599)	秋田県立大学・生物資源科学部・教授 (21401)	
研究協力者	中村 保典 (Nakamura Yasunori) (30013767)	秋田県立大学・生物資源科学部・名誉教授 (21401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	幸山 奈々 (Kohyama Nana)	秋田県立大学・生物資源科学部・学部生 (21401)	
研究協力者	三浦 聡子 (Miura Satoko)	秋田県立大学・生物資源科学部・大学院生 (21401)	