

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：23303

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K18608

研究課題名(和文) コシヒカリに由来するレジスタントスターチ含量が高く食味も良い米の育種

研究課題名(英文) Breeding of rice with high resistant starch content derived from Koshihikari

研究代表者

本多 裕司 (Honda, Yuji)

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：40399382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)： コシヒカリに重イオンビームを照射した変異米1,000系統以上から、変異米の難消化性を分析し、難消化性を示すとともにコシヒカリの食味を維持した系統の育種を目的とした。α-アミラーゼによる分解性を指標とした初期スクリーニングから難消化性を示すと考えられた系統をいくつか選抜する事ができた。その後栽培を重ねて選抜した系統の性質を追跡したが、選抜当初に見られた難消化性が次世代に継承されるにはいたらなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難消化性澱粉(RS)は血糖値の上昇抑制や脂質代謝の改善など食物繊維と同様の働きをすることが報告されており、RSを多く含む食品の機能性が注目されている。食味が良くRS含有量が高い米を得ることができれば、炊飯米から日常的にRSを摂取することができ、日本人の健康維持や増進につながる事が期待された。今回は難消化性を示すイネの選抜方法と問題点を見いだす事ができたので、今後の難消化性を示すイネの選抜法の基礎的な研究法を確立に寄与する事が考えられる。

研究成果の概要(英文)： We analyzed the indigestibility of mutant rice from more than 1,000 lines of mutant rice that irradiated Koshihikari with a heavy ion beam and aimed to breed strains that showed indigestibility and maintained the taste of Koshihikari.

We were able to select some strains that were considered to be indigestible from the initial screening using the degradability of α-amylase as an index.

After that, the properties of the selected strains were checked after repeated cultivation, but the indigestibility seen at the beginning of the selection was not passed on to the next generation.

研究分野：応用糖質科学

キーワード：難消化性澱粉 コシヒカリ 重イオンビーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

難消化性澱粉 (RS) は血糖値の上昇抑制や脂質代謝の改善など食物繊維と同様の働きをすることが報告されており、RS を多く含む食品の機能性が注目されている。しかし、RS 含有量の高い米は炊飯すると食味が悪いため、これらの米は主に加工用として利用されている。食味が良く RS 含有量が高い米を得ることができれば、炊飯米から日常的に RS を摂取することができ、日本人の健康維持や増進につながることを期待された。

2. 研究の目的

現在の日本で生産されている米のなかでも、コシヒカリは食味に関して、安定した高い評価を得ている。近年、石川県立大学の西澤らは低カドミウムのコシヒカリ等の開発に成功しており、コシヒカリに重イオンビームを照射した変異米 2500 系統以上を得ている。

本研究では、これらの変異型コシヒカリの豊富なライブラリーを利用して、変異米の難消化性と保水量を分析し、難消化性を示し、かつ食味の良いコシヒカリの育種を目的とした。さらに、変異型コシヒカリの難消化性について詳しく検討するために、本章ではマウスに野生型および変異型コシヒカリを経口投与し、投与後の血糖値の変化についても調べることも目的とした。

3. 研究の方法

2016 年に、成長が良い苗 1096 株(野生株 40 株、変異株 1056 株)を選別して石川県立大学の付属農場の水田に移植した。変異株は 4 区画に分け栽培し、変異株の区画間に野生株を栽培した。栽培した試料を脱穀および籾摺りをした後に、マルチビーズショッカー (安田機器) を用いて粉碎することで分析試料 (玄米粉) を調製した。試料 10 mg を 0.2 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) 250 μ L、10 mM 塩化カルシウム 50 μ L、蒸留水 150 μ L を添加した。それらの懸濁液にブタ膵臓由来 α -アミラーゼ液または蒸留水 100 μ L を加え、マイクロチューブローター (MTR-103, AS ONE) を用いて、恒温器内 (37) 分速 21 回転で 19 時間攪拌させた。反応終了後、5 分間遠心分離 (8,400 \times g) し、得られた上清を試料溶液とした。試料液中の遊離還元糖を DNS 法で定量し、酵素反応液の還元糖から酵素非添加液の還元糖量を差し引くことによって、アミラーゼ分解活性を評価した。また、試料の消化性の詳細を調べるために消化性澱粉/レジスタントスターチ分析法 (K-DSTRS) キット (Megazyme 社) を用いて易消化性澱粉 (RDS) と遅消化性澱粉 (SDS) の含有量を測定した。RS 含有量はレジスタントスターチ分析法 (K-RSTAR) キット (Megazyme 社) を用いて測定した。澱粉の結晶型と結晶化度は広角 X 線回折装置 (Miniflex、リガク) を用いて測定した。

マウスを扱う実験は、石川県立大学動物実験委員会の承認を得て実施した(承認番号: R2-14-28)。本実験は、食品機能科学研究室 松本健司先生にマウスの予備飼育や実験操作に協力していただいた。

各米粉をチューブに 2.0 g ずつ量り取り、超純水 20 mL を加え、ホモジナイザーを用いて米粉を粉碎した。日本クレア社から購入し、1 週間予備飼育した 9 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを WA1B 投与群、C1H2B 投与群、および C2A4A 投与群の 3 群に分けた (n= 6)。マウスを 12 時間絶食させた後、各試料を 1 g/ kg 体重となるようにシリンジを用いて経口投与した。各群のマウスについて各試料投与前に尾静脈より採血し、グルコース測定装置

(スタットストリップエクスプレス 900, SIEMENS) を用いて空腹時血糖値を測定した。
 また、試料投与後 30、60、90、および 120 分においても同様に血糖値を測定した。

4 . 研究成果

コシヒカリに重イオンビームが照射された変異米を 2016 年度に 1056 株栽培し、 α -アミラーゼによる分解活性が低かった変異株を 3 株 (C29H 株、a4A 株、a27F 株) を選抜した。

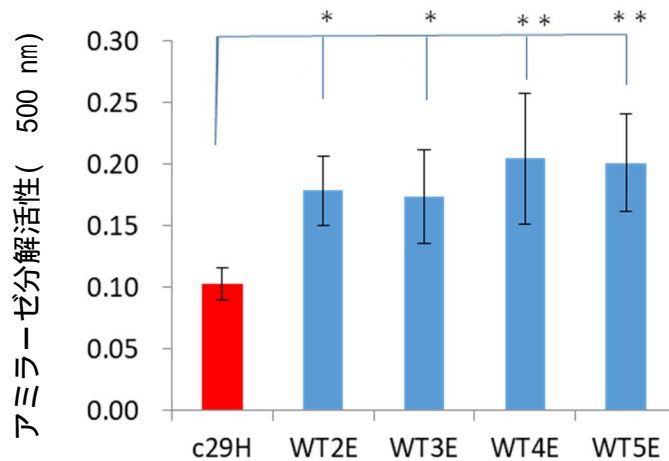


図 1 プタ腩臓由来アミラーゼによる野生型(WT2-5E)と比較した変異株(C29H)の分解性
 (Dunnett ' s test , * P < 0.05 , ** P < 0.01)

それら 3 株のなかでも最も低い分解活性を示した C29H 株を 2017 年度に 72 株栽培したところ、6 株 (C1H 株、C2A 株、C2B 株、C2E 株、C6D 株、C7H 株) が安定して難消化性を示した。

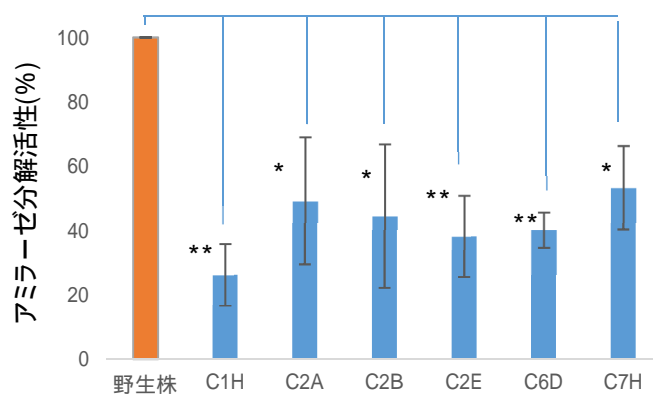


図 2 プタ腩臓由来アミラーゼによる野生型と比較した変異株(C1H など)の分解性
 (Tukey-Kramer test , * P < 0.05 , ** P < 0.01)

さらに 2019 年度に上記の株をそれぞれ 24 株ずつ栽培し、C29H 株の難消化性を受け継ぐ 2 株 (C1H2A 株と C2A4A 株) を選抜した。2020 年度は 2019 年度に選抜した C1H2B 株と C2A4A 株の難消化性が次世代に継承されているか検証するとともに、これらの選抜株の難消化性を分析した。

α -アミラーゼによる変異型コシヒカリに含まれる澱粉の分解活性を野生型コシヒカリと相対的に比較すると C1H2B 株は野生型の 110%、C2A4A 株は 95%であった。各試料に含まれている RDS、SDS、および RS 含有量について野生型と変異型を相対的に比較すると、RDS の場合 C1H2B 株は野生型の 93%、C2A4A 株は 94%であった。SDS について比較す

ると、C1H2B 株は野生型の 116%であり野生型よりも高い傾向を示し、C2A4A 株は 101%であった。両変異株の RS は野生型の 101%であり野生型とほぼ同様の値を示した。また、X 線粉末回折による結晶型および結晶化度を測定したが、C1H2B 株および C2A4A 株の結晶型は野生型コシヒカリと同様の A 型であり、両変異株の結晶化度は野生型とほぼ同様の値であった。

各試料を投与したマウスの血糖値変化を図 1 に示した。各時間における C1H2B 投与群と C2A4A 投与群のマウスの血糖値変化は野生型 (WA1B) 投与群のマウスの血糖値変化と比較して大きな差異が見られなかった。

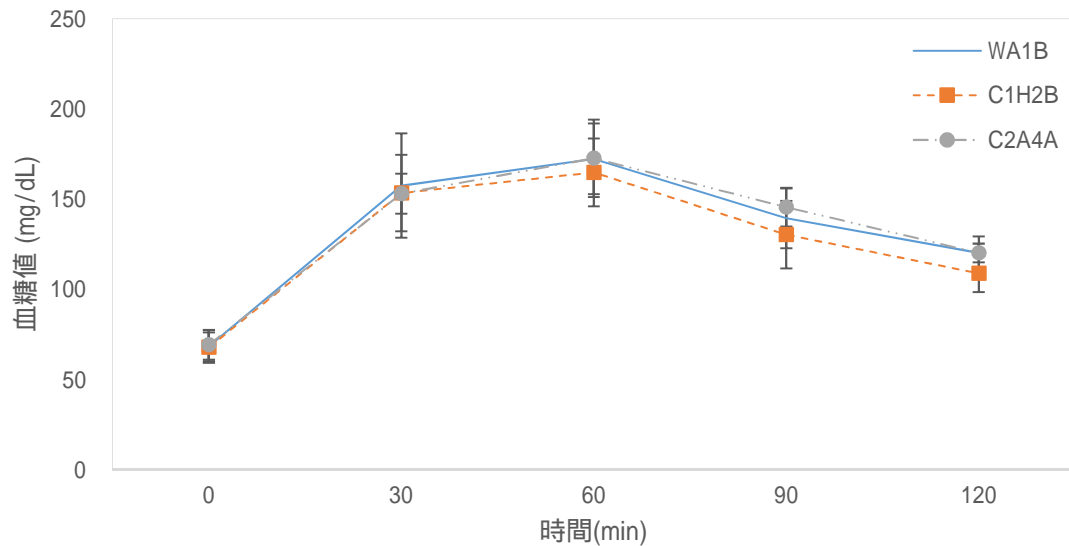


図 3 各試料を投与したマウスの血糖値変化

以上の結果から、初期スクリーニングにおいて難消化性を示すと考えられた株をいくつか選抜する事ができたが、その形質が次世代に継承されるにはいたらなかった。本選抜中に酵素非添加液の還元糖量が高い場合、それらの試料は難消化性(耐アミラーゼ活性)を判別する際に除外したため、実際にはそれらの試料が難消化性を示す可能性も考えられた。また、当初から α -アミラーゼだけではなく β -グルコシダーゼを添加して選抜すれば、さらに精度が高まったとも考えられる。以上の事を考慮して、再度選抜を試みれば難消化性を示すコシヒカリを見いだす事が可能となるかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------