

博士(農学) 金丸京平

学位論文題名

ダイズの高ルテイン含量形質の遺伝解析および
その育種利用に関する研究

学位論文内容の要旨

ダイズ(*Glycine max*(L.)Merr.)種子成分は、ダイズ食品の栄養性や風味、加工適性に密接に関与することから、タンパク質、脂質等をはじめイソフラボンやトコフェロール、サポニン等の機能性成分の質的・量的改良が重要視されてきた。ルテインは脂溶性の抗酸化物質で、白内障や加齢黄斑変性症などの眼病に対して予防・改善効果を示す機能性成分として注目されている。ダイズ種子はカロテノイドとして低濃度のルテインを含有することが知られていた(Monma *et al.* 1994)が、ダイズのルテイン含量に関わる育種研究は全く行われてこなかった。本研究の目的は、ダイズ種子の新規栄養機能性成分として注目されるルテイン含量の育種に向けて基礎的知見を得ることであり、ダイズの高ルテイン含量形質について遺伝解析を行うとともにその作用機序について考察を行った。

第1章では、ダイズのこれまでの成分育種の研究経緯や最近の進展を概説し、ダイズにおけるルテイン含量の育種の展開について論じた。

第2章では、ダイズおよびツルマメ(*Glycine soja* Sieb. et Zucc.)遺伝資源の品種・系統を対象として、網羅的にルテイン含量を調査して高ルテイン含量変異体の検索を試みた。ツルマメ610系統のルテイン含量は、ダイズに比べ有意に高い分布を示し、普通ダイズ品種に比べて5~10倍程度ルテインを高く含有するツルマメ系統(以下、高ルテインツルマメ系統)を見出した。高ルテインツルマメ系統では主要なルテインに加えて、 β -カロテンとクロロフィルaおよびクロロフィルbが検出され、ルテインはその殆どが子葉に由来するのに対して、 β -カロテンとクロロフィル類は種皮に蓄積していることを明らかにした。この結果は高ルテインツルマメ系統の子葉がルテインの色相の濃い黄色を呈していることと符合した。栽培年次の異なる種子の分析から、高ルテイン含量形質は環境による変動を受けにくい遺伝的に安定した形質であることを明らかにした。

第3章では、高ルテイン含量形質の遺伝様式を明らかにするために、ダイズ品種と高ルテインツルマメ系統の交雑による3つの分離集団を用いて遺伝解析を行った。ダイズ品種トヨムスメ×高ルテインツルマメ系統 GD50844 およびダイズ系統十育 241×高ルテインツルマメ系統 B09092 のF₂種子とF₂個体(F₃種子)のルテイン含量は両親間に連続分布し、高ルテインツルマメ親に匹

敵するルテイン含量の高い後代系統が少数出現した。トヨムスメ×GD50344 および十育 241×B09092 の F_2 種子におけるルテイン含量の広義の遺伝率(h^2_B)が高いこと、ならびに、ダイズ系統 TK780×高ルテインツルマメ系統 B01167 の F_9 種子と F_{10} 種子のルテイン含量は有意な正の相関を示したことから、ルテイン含量は遺伝形質であることが明らかとなった。一方、本形質がツルマメのもつ野生形質とリンクしている可能性が考えられた。小粒種子はツルマメ特有の形質であるが、トヨムスメ×GD50344 の F_2 個体(F_3 種子)においてルテイン含量と種子重との間に相関は認められなかった。一方、TK780×B01167 の RIL 集団ではルテイン含量と種子重の間に負の相関関係を認めた。また、3 つの交雑集団においてルテイン含量と開花日との間に有意な正の相関が認められた。

第 4 章では、高ルテイン含量形質に関与する量的形質遺伝子座を明らかにするために、TK780×B01167 の RIL 集団およびトヨムスメ×GD50344 の F_2 集団を用いて QTL 解析を行った。その結果、TK780×B01167 の RIL およびトヨムスメ×GD50344 の F_2 集団において連鎖群 D1a と D2 のそれぞれ AFLP マーカー ATG/CAT310 と SSR マーカー Sct_192 の近傍にルテイン含量の QTLs を検出した。このことから、B01167 と GD50344 の高ルテイン含量形質を支配する共通する遺伝子座が D1a と D2 に存在することが示唆された。両集団において、ルテイン含量の QTL が連鎖群 C2 の開花日に関わる QTL の近傍に検出されたことから、ルテイン含量は開花日の違いによる生育環境の影響も受ける可能性が高いと考えられる。また、連鎖群 D2 のルテイン含量に関する QTL の近傍には種子重に関与する QTL が存在するが、互いの QTLs は密には連鎖していないので、マーカー選抜等により両形質を切り離して育種利用できると考えられる。

第 5 章では、高ルテイン含量形質の作用機序に関する知見を蓄積するために、高ルテインツルマメ系統におけるカロテノイド諸成分とルテインとの関連性について精査した。その結果、高ルテインツルマメ系統では主要なルテインに加え、ネオキサンチン、ビオラキサンチン、アンセラキサンチン等のキサントフィル類が増大していることを明らかにした。これらのキサントフィル類は、第 3 章で用いた交雑集団の高ルテインを有する後代種子においても検出された。このことから、高ルテイン含量形質はルテインを含めた種子登熟中のキサントフィル類全体の生合成あるいは代謝分解の変異が関与する可能性が考えられた。そこで、TK780×B01167 の高ルテインおよび低ルテインの RIL を用いてダイズの推定ルテイン生合成関連遺伝子の発現解析を行うことにより、その発現程度と高ルテイン含量形質との関連性を検討した。その結果、高ルテイン RIL と低ルテイン RIL の間でルテイン生合成関連遺伝子の発現程度に顕著な差異は認められなかった。種子登熟中の未熟種子のルテイン含量を分析したところ、高ルテインおよび低ルテイン含量の RIL 系統とも登熟の初期段階ではルテイン含量は高く、種子の登熟が進むにつれてルテイン含量が減少したが、高ルテインと低ルテイン RIL 系統との間で登熟後期におけるルテインの減少程度に有意な差異が認められた。これらの結果から、種子登熟中に合成・蓄積されたルテインの分解に関わる遺伝子の変異が高ルテイン含量形質に関与する可能性が高いと推察された。

第 6 章では、本研究の結果から示されたダイズの高ルテイン化育種の可能性と課題を総合的に考察した。

学位論文審査の要旨

主　查　教　授　喜多村 啓　介
副　查　教　授　三　上　哲　夫
副　查　准教授　阿　部　純
副　查　助　教　山　田　哲　也

学　位　論　文　題　名

ダイズの高ルテイン含量形質の遺伝解析および その育種利用に関する研究

本論文は 6 章 120 頁からなる和文論文であり、図 24、表 9 を含む。

ダイズ(*Glycine max*(L.) Merr.)の種子成分は、ダイズ食品の栄養性や風味、加工適性に密接に関与することから、タンパク質、脂質をはじめイソフラボンやサポニン等の成分の質的・量的改良が重要視されてきた。ルテインは脂溶性の抗酸化物質で、白内障や加齢黄斑変性症などの眼病に対して予防・改善効果を示す機能性成分として注目されている。ダイズ種子はカロテノイドとして低濃度のルテインを含有することが知られていた(Monma *et al.* 1994)が、ダイズのルテイン含量を向上する育種研究は全く行われてこなかった。本研究の目的は、ダイズ種子の新規栄養機能性成分として注目されるルテイン含量の育種改良に向けて基礎的知見を得ることであり、ダイズの高ルテイン含量形質について遺伝解析を行うとともにその作用機序について考察を行った。

1. 高ルテインツルマメ系統の同定およびその特徴

ダイズおよびツルマメ(*Glycine soja* Sieb. et Zucc.)遺伝資源の多数の系統を対象として、網羅的にルテイン含量を調査して高含量変異体の検索を試みた。ツルマメ 610 系統のルテイン含量の分布は、ダイズの分布に比べ有意に高い値を示し、普通ダイズ品種に比べて 5~10 倍程度ルテインを高含有するツルマメ系統(以下、高ルテインツルマメ系統)を見出した。高ルテインツルマメ系統では主要なルテインに加えて、 β -カロテンとクロロフィル a および b が検出され、ルテインの殆どが子葉に由来し、 β -カロテンとクロロフィル類は種皮に蓄積していることを示した。この結果は高ルテインツルマメ系統の子葉がルテインの色相の濃い黄色を呈していることと符合した。また、高ルテイン含量形質は環境による変動を受けにくい遺伝的に安定した形質であることを明らかにした。

2. ツルマメに由来する高ルテイン含量形質の遺伝解析

ダイズ種子のルテイン含量の遺伝様式を明らかにするために、ダイズ品種と高ルテインツルマメ系統の交雑に由来する 3 つの分離集団を用いて遺伝解析を行った。ダイズ品種トヨムスメ×高ルテ

インツルマメ系統 GD50344 およびダイズ系統十育 241×高ルテインツルマメ系統 B09092 の F_2 種子と F_2 個体(F_3 種子)のルテイン含量は両親間に連続分布し、高ルテインツルマメ親に匹敵するルテイン含量を有する後代系統が少数出現した。これらの 2 つの集団の F_2 種子のルテイン含量の広義の遺伝率(h^2_B)は高く、また、ダイズ系統 TK780×高ルテインツルマメ系統 B01167 の F_9 種子と F_{10} 種子のルテイン含量に有意な正の相関が認められたことから、高ルテイン含量形質は遺伝形質であることが示された。小粒種子はツルマメ特有の形質であるが、トヨムスメ×GD50344 の F_2 個体(F_3 種子)においてルテイン含量と種子重との間に相関は認められなかった。

3. 高ルテイン含量形質の QTL 解析

ダイズの高ルテイン化育種に応用できるように、TK780×B01167 の RIL 集団およびトヨムスメ×GD50344 の F_2 集団を用いて QTL 解析を行った。その結果、TK780×B01167 の RIL およびトヨムスメ×GD50344 の F_2 集団において連鎖群 D1a と D2 の同じ領域にルテイン含量の QTLs が検出された。このことから、B01167 と GD50344 のルテイン含量を支配する共通の遺伝子座が D1a と D2 に存在することが示唆された。両集団において、ルテイン含量の QTL が連鎖群 C2 の開花日に関わる QTL の近傍に検出されたことから、ルテイン含量には開花日の違いによる生育環境も影響する可能性が大きいと考えられた。また、連鎖群 D2 のルテイン含量の QTL の近傍には種子重に関与する QTL が存在したが、互いの QTLs は密には連鎖していないのでマーカー選抜等により両形質を切り離して育種利用できると考えた。

4. 高ルテインツルマメ系統の成分的特性および作用機序の解析

高ルテイン含量形質の作用機序の知見を蓄積するために、高ルテインツルマメ系統におけるカロテノイド諸成分とルテインとの関連性について精査した。高ルテインツルマメ系統では主要なルテインに加え、ネオキサンチン、ビオラキサンチン、アンセラキサンチン等のキサントフィルが検出され、これらのキサントフィルとルテイン含量との間に有意な正の相関が認められた。このことから、高ルテイン含量形質はルテインを含めたキサントフィル類全体の生合成あるいは代謝分解の変異が関与する可能性が高いと考えられた。そこで、ルテイン生合成関連遺伝子の発現解析を行い、その発現程度と高ルテイン含量形質との関連性を検討した。その結果、高ルテイン RIL と低ルテイン RIL の間でルテイン生合成関連遺伝子の発現程度に顕著な差異は認められなかった。次に、未熟種子のルテイン含量を分析した結果、高ルテインおよび低ルテインの RIL 系統とも登熟の初期段階ではルテインは高含量を示したが、登熟に伴いルテイン含量は減少し、登熟後期におけるルテインの減少程度に両系統間で有意な差異が認められた。これらの結果から、種子登熟中に合成・蓄積されたルテインの分解に関わる遺伝子の変異が高ルテイン含量形質に関与していると考えた。

本研究は、ダイズ種子の新規栄養機能性成分として注目されるルテイン含量の育種改良に向け基礎的知見を得るとともに、新しい成分育種の道を開くものであり、学術的に高く評価できる。

よって、審査員一同は、金丸京平が博士(農学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。