

ダイズ貯蔵蛋白質グリシニンの組成改変育種に関する研究

学位論文内容の要旨

わが国におけるダイズの自給率はわずか 5%程度にすぎず、食料自給率向上の観点から増産が望まれている。また、国産ダイズはそのほぼ全量が食品原料として使用されていることから、加工適性の向上も強く求められている。国産ダイズの約 50%が豆腐に使用されており、豆腐加工適性の改善は重要な育種目標とされている。子実成分の約 40%を占める蛋白質は、豆腐の歩留まりや物性に大きな影響を及ぼすことから、これまで主として高蛋白質品種の育成、すなわち高蛋白質化により豆腐加工適性の改善が行われてきた。ダイズ蛋白質の主要成分は、 β -コングリシニン(7S)とグリシニン(11S)で、貯蔵蛋白質の約 70%を占めている。前者は豆腐の軟らかさ、付着性および保水性に、後者は豆腐の硬さに関与し、これら蛋白質の含有量や含有比率(11S/7S比)は豆腐特性に大きく影響する。さらに、グリシニンでは構成するサブユニットごとに、蛋白質ゲルの形成速度、強度、透明性に違いがあることも明らかにされている。食品研究分野では蛋白質の特性に関する研究成果が蓄積されてきたが、これらを活用した質的改変育種は行われてこなかった。

近年、消費者の健康志向の高まりから、食品の健康機能性への関心が強まっている。ダイズ蛋白質 β -コングリシニンには血中中性脂肪低減効果が明らかになり、特定保健用食品の原料として利用されるようになった。機能性を改善した品種を育成し新たな用途を開拓することは、国産ダイズの消費拡大にとっても重要な意義があるといえる。

本研究では、貯蔵蛋白質の主要成分であるグリシニンのサブユニット欠失遺伝子を導入したダイズ新品種の育成を目的に、蛋白質組成改変がダイズの生育や収量性、および蛋白質の特性、豆腐加工適性、機能性に及ぼす影響等を解明し、グリシニン組成改変育種の有効性について検討した。

第1章では、グリシニンサブユニット欠失ダイズが育種に利用可能か検証するために、サブユニットを欠失する準同質遺伝子系統を作出し、その生育特性について調査した。

グリシニンサブユニット欠失の遺伝様式を解析した結果、グループ I に含まれる 3 サブユニット ($A_{1a}B_2$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ 、 A_2B_{1a}) を支配する遺伝子座は強連鎖し、グループ I 欠失性が単一の劣性遺伝子座に支配されることを認めた。グループ II に含まれる $A_5A_4B_3$ 、 A_3B_4 の欠失性も単一の劣性遺伝子座に支配された。グループ I と II の 3 遺伝子座はそれぞれ独立することから、グループ II の 2 つのサブユニットを II a、II b と分類した。

「エンレイ」と「タマホマレ」を反復親とする戻し交配により、8 種類の遺伝子型をもつ準同質遺伝子系統を育成し、いずれも親品種並の栽培適性を有することを明らかにした。

第2章では、グリシニンサブユニットの欠失が貯蔵蛋白質の基本的な特性に及ぼす影響について、準同質遺伝子系統のグリシニン高次構造や加工適性関連特性などを解析した。

サブユニットを欠失したグリシニンの免疫反応性を比較すると、Ⅱa 欠失型およびⅡb 欠失型はⅠ・Ⅱa・Ⅱb 保有型と同じ反応を示し、Ⅰ欠失型、Ⅱa・Ⅱb 欠失型、Ⅰ・Ⅱb 欠失型、Ⅰ・Ⅱa 欠失型は反応が異なった。

ゲルクロマトグラフィーで推定されるサブユニットⅡa・Ⅱb 欠失型グリシニンの分子量は正常型の半分であった。超遠心分析の沈降係数は、Ⅰ・Ⅱa・Ⅱb 保有型とⅡb 欠失型が11S、Ⅱa・Ⅱb 欠失型が7Sで、それぞれ単独の均一な高次構造を形成した。Ⅱa 欠失型、Ⅰ欠失型およびⅠ・Ⅱb 欠失型では11Sと7Sが検出され、Ⅰ・Ⅱa 欠失型には12S成分も存在したことから、高次構造の異なる複数成分が含まれることを認めた。これらのことから、グリシニンサブユニット欠失が蛋白質の高次構造に影響を及ぼすことを示した。

グリシニンサブユニットの欠失により、貯蔵蛋白質の11S/7S比は著しく大なる変異幅となった。サブユニット欠失が蛋白質溶液の溶解性に及ぼす影響は小さいが、Ⅰ・Ⅱa・Ⅱb 欠失型では不溶化のpHが酸性側にあった。サブユニットⅠ単独で構成されるグリシニンの溶解性は、低イオン強度条件下では他の組成のグリシニンとは異なる挙動をとった。グリシニンサブユニット欠失にともなうこれら特性の変化は、加工適性に影響を及ぼす要因となることを推察した。

サブユニットⅠ・Ⅱa・Ⅱb 欠失系統と反復交配親「エンレイ」のアミノ酸組成に大きな差はなく、サブユニットを欠失しても子実全体の栄養性は低下しないと考えた。グリシニンサブユニット欠失系統にβ-コングリシニン含有量の増加を認め、蛋白質の蓄積過程において両蛋白質に相補関係が存在することを推察した。

第3章では、分離蛋白質で明らかにされてきた蛋白質のゲル化特性に関する知見を豆乳レベルで検証するために、サブユニット組成を改変したダイズの豆乳を用い、豆腐破断応力を指標としてゲル形成能を解析した。

11S成分含有量の低い豆乳と7S成分の低い豆乳を混合して製造した豆腐カードでは、豆乳中の11S/7S比と破断応力の間に高い正の相関を認めた。11S/7S比の高い混合豆乳に凝固剤塩化マグネシウムを添加すると急速な凝固反応が起こるが、11S/7S比の低い混合豆乳では凝固剤との反応が遅く、氷温条件では凝固反応が認められなかった。これらのことから、豆乳中の11S/7S比を変えることによって、豆腐の凝固特性を制御できる可能性を示した。グリシニンサブユニット組成の異なる豆乳で製造した豆腐カードの破断応力と豆乳中の11S/7S比にも、高い正の相関を認めた。サブユニットⅠ型豆乳では、加熱時間を長くすると破断強度が高くなるが、Ⅱa・Ⅱb型豆乳では加熱時間を長くしても破断強度が小さく、サブユニットⅠとⅡに豆腐カードの物性に与える影響力の差を認めた。

第4章では、グリシニンサブユニット欠失系統から新品種「ななほまれ」を育成し、栽培特性、成分特性、加工特性を解析した。

「ななほまれ」はグリシニンサブユニットⅠ・Ⅱa・Ⅱbを欠失する国内初の品種で、一般品種並みの栽培適性、収量性、品質を有する。機能性蛋白質β-コングリシニン含有量が多いことから、機能性食品の原料として利用が見込まれる。β-コングリシニンを分離する際に抽出した全蛋白質からグリシニンを除去する工程が省略できる可能性があり、生産コストの削減にも効果が期待される。グリシニン欠失ダイズの加工用途を拡大する目的で、「ななほまれ」の高蛋白質化と大粒化の選抜を進めた。

第5章の総合考察では、グリシニン欠失遺伝子を用いた蛋白質の成分育種が、豆腐加工

適性の改良の新たな手法として利用可能なことを指摘した。グシニン欠失に伴う β -コングリシニンの増加は、既存食品の付加価値向上に役立つだけでなく機能性食品原料として用途拡大も期待され、国産ダイズの生産振興と需要拡大に貢献できることを考察した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 喜多村 啓 介
副 査 教 授 三 上 哲 夫
副 査 准教授 阿 部 純

学位論文題名

ダイズ貯蔵蛋白質グリシニンの組成改変育種に関する研究

本論文は 5 章 132 頁からなる和文論文であり、図 28、表 32 および要約を含む。

国産ダイズの豆腐加工適性の改善は、重要な育種目標である。これまで主として高蛋白質品種の育成、すなわち蛋白質含有量の向上により豆腐の歩留まりや物性の改善が行われてきたが、蛋白質の質的改変育種の取り組みはほとんどなかった。

本研究では、貯蔵蛋白質の主要成分であるグリシニンのサブユニット欠失遺伝子を導入したダイズ新品種の育成を目的に、蛋白質組成改変がダイズの生育、収量性、蛋白質の特性、加工適性、機能性に及ぼす影響等を解明し、グリシニン組成改変育種の有効性を検討した。得られた結果は以下のとおりである。

1. グリシニンサブユニット欠失の遺伝様式とサブユニット欠失系統の特性

グリシニンサブユニット欠失の遺伝様式を解析した結果、グループ I に含まれる 3 サブユニット ($A_{1a}B_2$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ 、 A_2B_{1a}) を支配する遺伝子座は強連鎖し、グループ I 欠失性が単一の劣性遺伝子座に支配されることを認めた。グループ II に含まれる $A_5A_4B_3$ 、 A_3B_4 の欠失性も単一の劣性遺伝子座に支配された。グループ II の遺伝子座はそれぞれ独立することから、2 つのサブユニットを II a、II b とした。サブユニット組成の異なる 8 種類の準同質遺伝子系統を育成し、いずれも親品種並の栽培適性を有することを明らかにした。

2. サブユニット欠失がグリシニンの構造や加工適性関連特性に及ぼす影響

サブユニット I 欠失型、II a・II b 欠失型、I・II a 欠失型、I・II b 欠失型は、グリシニンと疫反応性が異なった。超遠心分析の沈降係数は、I・II a・II b 保有型と II b 欠失型が 11S、II a・II b 欠失型が 7S 単独で、II a 欠失型、I 欠失型および I・II b 欠失型では 11S と 7S、I・II a 欠失型には 12S 成分も存在することから、サブユニット欠失による蛋白質の高次構造変化を認めた。グリシニンサブユニットの欠失により、貯蔵蛋白質の 11S/7S 比は著しく大なる変異幅となった。サブユニット欠失が蛋白質溶液の溶解性に及ぼす pH の影響は小さいが、II a と II b を欠失したグリシニンは、低イオン強度条件下では他の組成のグ

リシニンと異なる溶解性を示した。このことから、サブユニット欠失が加工適性に影響を及ぼす要因となることを推察した。I・IIa・IIb 欠失系統では、 β -コングリシニン含有量の増加から蛋白質蓄積の相補性が推察されたが、子実全体のアミノ酸組成は反復親と差がないことから、栄養性への影響は少ないと考えた。

3. サブユニット組成改変系統の蛋白質ゲル化特性

分離蛋白質で明らかにされてきた蛋白質ゲル化特性に関する知見を豆乳で検証するために、サブユニット組成改変系統の豆乳を用いてゲル形成能を解析した。11S 成分あるいは 7S 成分の低下した豆乳を混合して製造した豆腐カードでは、豆乳中の 11S/7S 比と破断応力の高いに高い正の相関を認めた。11S/7S 比の高い混合豆乳は凝固剤塩化マグネシウムと急速な凝固反応を起こすが、11S/7S 比の低い混合豆乳では反応が遅いことから、豆乳中の 11S/7S 比により凝固特性を制御できる可能性を示した。グリシニンサブユニット組成の異なる豆乳で製造した豆腐カードでも、破断応力と 11S/7S 比に高い正の相関を認めた。サブユニット I 型豆乳では、加熱時間を長くすると破断強度が高くなったが、II 型豆乳では長時間加熱でも破断強度が小さく、サブユニット間に豆腐物性に与える影響力の差を認めた。

4. グリシニン欠失品種の育成とその特性

グリシニンサブユニット欠失系統から I・IIa・IIb 欠失型の新品種「ななほまれ」を育成し、栽培特性、成分特性、加工特性を解析した。「ななほまれ」栽培適性、収量性は一般品種並で、機能性蛋白質 β -コングリシニン含有量が多いことから、機能性食品原料としての利用が見込まれる。 β -コングリシニンを分離する際に抽出した全蛋白質からグリシニンを除去する工程が省略できる可能性があり、生産コストの削減も期待される。

本研究では、グリシニンサブユニットを欠失する準同質遺伝子系統を作出し、サブユニット欠失が貯蔵蛋白質の基本特性や加工適性に及ぼす影響を明らかにし、蛋白質の成分育種が豆腐加工適性の改良の新たな手法として利用可能なことを示した。さらにグリシニンを欠失する国内初の品種を育成し、その特性を明らかにした。これらの成果はダイズ成分改変育種の実用化に重要な道筋を立てるものであり、学術的に高く評価できる。

よって、審査員一同は、矢ヶ崎和弘氏が博士（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。