

イネ貯蔵デンプン合成関連酵素の遺伝・育種学的研究

中村, 哲洋

<https://hdl.handle.net/2324/2534485>

出版情報：九州大学, 2019, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 中村哲洋

論文題名 : イネ貯蔵デンプン合成関連酵素の遺伝・育種学的研究

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

イネ胚乳における貯蔵デンプンはアミロースとアミロペクチンから構成されている。アミロースはグルコースが直鎖上に連結した分子構造を示す一方、アミロペクチンはグルコース鎖が枝分かれした分子構造を有する。貯蔵デンプン代謝機構の解明には、既知のデンプン合成関連酵素の機能解明、及び同新奇酵素の同定が不可欠である。本研究では、葉における同化デンプン代謝系の解析によって得られた情報を活用し、①デンプン枝切り酵素、*Isoamylase1(ISA1)*の貯蔵デンプン代謝系における機能解明及び②新奇デンプン代謝関連遺伝子 *SUGARY2(SUG2)*の高密度連鎖地図を構築した。

*ISA1*活性を欠損する *sugary1(sug1)*変異体は、胚乳に貯蔵デンプンの代わりに水可溶性グルカン (WSG)を蓄積し、葉身に野生型と同等量の同化デンプンを蓄積する。*ISA1*の機能を解明するために、*sug1*変異体の同化デンプン代謝系に及ぼす影響を解析した。*sug1*変異体の葉身では*ISA1*の活性を消失するものの、葉身における同化デンプンの量とアミロペクチンの分子構造は共に野生型と同等であった。これらの結果から、*ISA*の活性の消失が葉身の同化デンプン合成に及ぼす影響は軽微であると考察した。イネ胚乳では3つのデンプン枝作り酵素、*Starch Branching Enzyme (BE)I*、*BEIIa*、*BEIIb*が発現しているものの、葉身では*BEIIb*は発現していない。*BEIIb*は貯蔵デンプン代謝系におけるアミロペクチンの短鎖を特異的に合成する機能を有する。これらの事実から、*BEIIb*による短鎖の合成には*ISA1*が不可欠である仮説を設定した。この仮説を証明するためには、胚乳において*ISA1*活性と*BEIIb*活性を欠損させることが必要である。そこで、*sug1*変異体と*BEIIb*に関する変異体 *amylose-extender (ae)*の二重変異体を作成し、その胚乳における貯蔵デンプンを解析した。*ae*変異体の胚乳ではWSGは蓄積せず、デンプン量は野生型より有意に減少している。*ISA1*と*BEIIb*両方の活性を欠損する *ae/sug1*二重変異体胚乳では、WSGの蓄積は認められなかった。さらに、*ae*変異体と *ae/sug1*二重変異体の胚乳貯蔵デンプンでは、デンプン蓄積量、アミロペクチン鎖長分布、デンプン粒の形態、結晶構造、熱糊化特性についてほぼ同等であった。これらの結果から、*ISA1*は*BEIIb*によって合成される過剰なアミロペクチン短鎖を特異的に除去する機能を有すると考察した。

新奇デンプン代謝関連酵素を同定するために、イネ *sug2* 変異体を解析した。*sug2* 変異体は胚乳の中心部に WSG を蓄積していたが、*ISA1* の活性は野生型と同等であった。さらに、*sug2* 変異の葉身では同化デンプンが有意に減少していた。これらの結果から、*sug2* 変異体は *sug1* 変異体とは異なる酵素の欠損によって WSG の蓄積が生じており、新奇の酵素に関する変異であると推定した。*SUG2* 遺伝子の同定を目的に、同遺伝子の高密度連鎖地図を構築した。その結果、*SUG2* 遺伝子候補領域を染色体 11 上の 288.5 kbp 内に絞り込んだ。この候補領域内に存在する 23 個の予測遺伝子の内、Os11g0586300 の遺伝子産物はシロイヌナズナにおける *Early Starvation 1 (ESV1)* と同源性を有すること、シロイヌナズナの *esv1* 変異体はイネの *sug2* 変異体と同様に葉身の同化デンプン蓄積量が減少すること、*ESV1* はデンプン粒上に存在し、デンプン分解を制御していることが報告されている。*sug2* 変異体における Os11g0586300 のゲノム塩基配列を解読した。その結果、解析した全ての *sug2* 変異体において、アミノ酸置換を伴う塩基置換を生じていた。これらの結果は Os11g0586300 が *sug2* 変異体の原因となる候補遺伝子であることを示唆している。