

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		
論文名	イネ貯蔵デンプン合成関連酵素の遺伝・育種学的研究		
論文調査委員	主査	九州大学	教授 熊丸敏博
	副査	九州大学	教授 安井 秀
	副査	九州大学	准教授 久保貴彦

論文審査の結果の要旨

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 α -1,4 結合によって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 α -1,6 結合によって枝分かれした分子構造を有する。デンプン合成代謝には、 α -1,4 結合形成を触媒するデンプン合成酵素、 α -1,6 結合形成を触媒するデンプン枝作り酵素、及び α -1,6 結合切断を触媒するデンプン枝切り酵素が関与することが知られている。貯蔵デンプン合成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、及び同新奇因子の同定と機能解明が不可欠である。本研究は、胚乳に貯蔵デンプンの代わりに水可溶性グルカン(Water soluble glucan: WSG)を蓄積する *sugary (sug)* 突然変異を用いて、①デンプン枝切り酵素の一つ Isoamylase1 (ISA1) の貯蔵デンプン代謝系における機能解明及び②新奇デンプン合成関連因子の同定のために *SUGARY2 (SUG2)* 遺伝子の高密度連鎖地図を構築したものである。

ISA1 活性を欠損する *sug1* 変異体は、胚乳に 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 の機能解明のために、*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* 変異体の葉身は ISA1 の活性を消失しているものの、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、ISA1 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 Branching Enzyme (BE)I、BEIIa、BEIIb が発現しているが、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 活性を同時に欠損した変異株を解析することが必要である。そこで、*sug1* 変異体と BEIIb 活性を欠損する *amylose-extender (ae)* 変異体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、デンプンの X 線解析パターン、及び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。

新奇デンプン合成関連因子を同定するために、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* 変異体の葉身では同化デンプン量が有意に減少していた。これらの結果から、*sug2* 変異は *sug1* 変異とは異なる因子の欠損によって WSG の蓄積が生じており、新奇因子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、遺伝子 *X* の遺伝子産物はシロイヌナズナにおける因子 Y と相同性を有すること、シロイヌナズナの *y* 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を減少させること、因子 Y 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* 変異体におけるゲノム上の遺伝子 *X* の塩基配列を解読した結果、解析した 6 系統の *sug2* 変異体において、終止コドンの形成又はアミノ酸置換を伴う塩基置換、又は塩基の欠失を生じていた。これらの結果から、遺伝子 *X* は *sug2* 変異の原因となる候補遺伝子であると考察した。

以上要するに、本論文はイネ貯蔵デンプン合成関連酵素のデンプン蓄積に関わる新奇機能を明らかにしたものであり、植物遺伝学及び植物遺伝子資源学に寄与する価値ある業績と認める。よって本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有すると認める。