

## 論文の内容の要旨

論文題目 モチコムギ澱粉の性状と応用に関する研究

氏名 早川克志

人類の長い農耕の歴史の中でトウモロコシ、コメ、オオムギといった他の穀物には存在していたモチ種がコムギ (*Triticum aestivum* L.) には存在しなかった。うるち種の澱粉はアミロースとアミロペクチンで構成されているが、モチ種澱粉にはアミロースがほとんどない。モチ種ができるためにはアミロースを合成する澱粉粒結合性澱粉合成酵素 (GBSS I) が欠損することが条件であるが、コムギは6倍体であるが故に3種のGBSS Iが全て変異する必要があった。それ故に天然にはモチコムギは存在しなかった。中村らが部分的モチコムギ(1つあるいは2つのGBSS I欠損コムギ)のスクリーニング法を開発し、部分的モチ変異体同士(関東107号とBai-Huo)を交配することによって世界で初めてモチコムギを作出することに成功した。本論文では、新規に作成されたモチコムギの澱粉性状の解析、モチコムギの果皮で発現するGBSS IのアイソザイムGBSS IIの解析、澱粉特性をもつモチコムギの二次加工特性の把握を行い、食品工業におけるモチコムギの潜在能力を明らかにすることを試みた。

第一章では、モチコムギ澱粉の糊化、老化特性の把握および澱粉の分子構造の特徴を解明することを目的とした。

作出されたモチコムギ澱粉のアミロース含量はほぼ0%であり、澱粉のほとんどがアミロペクチンであることを確認した。また、ラピッドビスコアライザーで解析したモチコムギ澱粉の糊化開始温度、糊化ピーク粘度、糊化後冷却時粘度は、両親系統を含むうるちコムギに比べて極端に低かった。このことからモチコムギは、低温で澱粉の膨潤が始まること、糊化澱粉の冷却時の粘度上昇にはアミロースが重要な役割を担うことが推察された。一方、示差走査熱量計(DSC)解析により、モチコムギの糊化特性関連温度( $T_0$ ,  $T_p$  と  $T_c$ )およびエンタルピーは両親系統に比べて高いことが明らかになった。このことからモチ

コムギは、うるちコムギより澱粉の結晶構造が強固なので、結晶構造を崩壊する、すなわち完全に糊化するためにはうるちコムギよりエネルギーを要することが推察された。このことはX線回折でもモチコムギがやや高い結晶性を示すことから確認された。また、DSC 分析とX線回折の結果、両親系統に代表されるうるちコムギ澱粉では糊化後1週間冷蔵保存で再結晶の形成が観測されるのに対して、モチコムギ澱粉は糊化後3週間冷蔵保存後も再結晶構造はほとんど形成されないことが明らかになった。このことから、モチコムギ澱粉は非常に高い老化耐性をもつことが示唆された。パン、麺、菓子など小麦粉ベースの二次加工品は、冷蔵庫などで低温保存した場合に食品が硬くなる老化が問題となっているが、モチコムギはこの問題を解決する食品素材となり得ると思われた。

アミロペクチンの構造を解析したところ、モチコムギの側鎖の平均重合度は、親品種系統より有意に高い( $P < 0.05$ ) 値を示した。一方、サイズ排除型クロマトグラフィーによりイソアミラーゼで分岐構造を切断したモチコムギアミロペクチン澱粉の Fr. III (比較的低分子の側鎖) / Fr. II (比較的高分子の側鎖) は、両親系統の値と比較して統計的な有意差を示さなかった。これらの結果からモチコムギのアミロペクチンの構成グルコース鎖は、短鎖や長鎖に偏ることなく全体的に重合度が高いことが推察された。このアミロペクチンの構造は、親の片方の品種の特性が遺伝したものではなく、GBSS I の欠損によって獲得した新たな特徴であると考えられる。上記したモチコムギの糊化特性および老化特性は、胚乳組織において GBSS I が欠損したため生じたアミロース含量の極端な減少、アミロペクチンの構造変化に起因していると推定された。

第二章では、果皮における澱粉粒結合性澱粉合成酵素の性状を明らかにした。モチコムギの胚乳澱粉のアミロペクチン含量は、両親系統より高くなっていた。GBSS I が欠損している以上、アミロペクチンの構成成分である  $\alpha$  1-4 結合をしている直鎖状の分子の供給を胚乳の GBSS I 以外の酵素に委ねざるを得ない。その候補として元来その機能を担っている胚乳中の可溶性 starch synthase (SS) および胚乳以外の組織にある SS のアイソザイムの存在が想定される。他の組織で作られた澱粉が加水分解され転流し、貯蔵澱粉の基質の供給源となっていることはよく知られているからである。モチコムギの開花後5日目の果皮組織にはヨウ素染色で青紫に染まる澱粉が存在することが観察された。モチコムギの果皮組織には GBSS I とは分子量と等電点のいずれも異なる澱粉粒結合性の澱粉合成酵素が存在することを見出し GBSS II と命名した。GBSS II の二次元電気泳動パターンは GBSS I とよく似ており、GBSS I と同様に少なくとも3本の染色体にコードされるアイソザイムが存在することが示唆された。放射性同位元素を用いた実験により、GBSS II が高い澱粉合成活性をもつことを確認した。GBSS II の N 末端アミノ酸配列は、コムギの GBSS I とは類似しているが、完全に同じではなく、他の穀物やバレイショの GBSS I と高い相同性を示した。また、GBSS II は、植物の GBSS I や大腸菌のグリコーゲン合成酵素の基質結合部位と推定されている (Lys-Thr-Gly-Gly-Leu) というモチーフを含んでいた。GBSS II はバレイショやトウモロコシの GBSS I に対する抗血清と特異的に交差反応を示したが、果皮組織の可溶性澱粉合成酵素や胚乳組織の酵素とは交差反応を示さなかった。GBSS II は、存在形態だけではなく構造的にも可溶性の SS ではなく澱粉結合性の SS であることが示唆された。開花後5日目ぐらいまでに後に分解され胚乳組織に転流される澱粉を合成する酵素の一つが GBSS II であることが明らかになった。後に単離された GBSS II の cDNA の塩基配列から演繹したアミノ酸配列を上記で示した精製タンパク質から解明

したN末端アミノ酸配列と比較したところ異なるアミノ酸が確認された。このことから二次元電気泳動で予想されたようにGBSS IIもまたGBSS Iと同様に座乗染色体の異なるアイソザイムをもつことが示唆された。

第三章では、モチコムギから調製した小麦粉の二次加工面における実用性を評価した。福島と盛岡の圃場で生産したモチコムギをそれぞれ別にテストミルで粉碎し60%粉を調製し、アミログラフ、DSCを測定したが、第一章で評価したモチコムギと同様の糊化特性、老化特性を示したことから、モチ種であることが確認された。しかし、粗蛋白、灰分等が異なったため、両者をブレンドして二次加工試験に供した。評価したアプリケーションは、パン、スポンジケーキ、バターケーキ、うどんと餃子等の麺皮食品である。小麦粉に対してモチコムギの粉を過度に(20%より多く)加えるとほとんど全ての二次加工製品で官能的に劣る(くちやついたり、団子状になったり、クリスピー感が低下したり)ものになった。バターケーキのように糖や油脂が多い系では15%添加で好ましい食感を与え、中華まんのように蒸し系食品ではもちもち感が好ましいものになったが、麺では早茹でになるものの茹で細りを起こし麺への利用は不向きと考えられた。しかしながら、モチコムギの粉を20%以下混合した二次加工品はいずれも顕著に日持ち性が向上した。モチコムギ粉を少量通常的小麦粉に配合することにより澱粉の老化耐性が改善された。モチコムギ粉を含有する小麦粉で製造したパンは、一日保存後も保湿性、軟性、粘りを維持していた。このモチコムギ粉の抗老化剤としての効果は、ケーキ製品でもまた確認できた。調査したアプリケーションで最も高い効果を示したのは冷凍餃子であった。モチコムギ粉を30~50%含む小麦粉を利用することにより冷凍解凍後に硬くなる問題(冷凍障害)が他の添加剤を入れることなく解決した。モチコムギ粉は、穀粉食品の老化耐性、冷凍耐性を向上させるのに有用であると思われた。モチコムギは、新しい食品素材としてのみではなく、改良剤としての効果も期待できる。

第一章、第三章で用いたモチコムギの遺伝的背景を半数体育種で整えて作製されたのが、第二章で用いた盛系-CD-1478と盛系-CD-1479であるが、これらは2000年10月に「はつもち」、「もち乙女」として品種登録が完了した。さらに「はつもち」に改良を加え、2009年9月品種登録が完了したのが「もち姫」である。「もち姫」は東北地方の農家で栽培育成、地元の二次加工業者によって製品化されている。第二章で示したようにモチコムギのみでの通常的小麦粉製品への使用にはまだ改良の余地が残されているが、他の特徴的な小麦粉とブレンドすることによりモチコムギの特性を生かした新規なアプリケーション開発が現時点で期待できる。また、モチ種穀物は一般に消化性が高いので物性改良剤としてだけではなく機能性食品素材としての有効性も今後検証されていくことと思われる。

一方で、モチコムギのもつ老化耐性のようなユニークな特徴を最大限に生かすためには、モチコムギ単独での使用が有利になる。遺伝的背景を実用品種に落とし込んだ上でのさらなる研究開発が必要と考えられる。特に第一章で示した澱粉の脆弱性を改良する方向での育種、アイソザイムが次々に同定され、その機能が明らかになってきている澱粉の合成関連各酵素との組み合わせによる育種が有効と考えられる。

本論文は、6倍体植物であるコムギにおけるGBSSの機能を明らかにすると共に、澱粉を劇的に改変したコムギの食品工業への応用を初めて示した点で意義のあるものと考えている。