

# 日本のコムギ品種を用いた小麦粉生地の伸展性に寄与する $\alpha$ グリアジン遺伝子の解析

株式会社日清製粉グループ本社 (在学時 生命環境システム科学専攻) 野間聡

主研究指導教員 (在学時) 川浦香奈子 准教授

副研究指導教員 (在学時) 木下哲 教授、辻寛之 准教授

## 1. 序

コムギは世界三大穀物の一つであり、食事に占める総カロリーの約 20%を供給する主要な食糧源である (Shiferaw et al. 2013)。コムギの種子を粉砕した小麦粉は他の穀物に比べ食品への加工性が高く、パンや麺など多くの食品に利用される。そのため、世界のコムギ生産量は 2019 年までに 7 億 6,600 万トンにまで増加している (FAOSTAT, 2021)。一方で、生活水準の向上等により、より品質の高い食品を求める消費者の需要が高まっている。今後もコムギが食糧源としての役割を果たしていくためには、小麦粉の加工性を高めることが求められる。

小麦粉の加工性にはグルテンが関与する。グルテンは小麦粉と水が混捏されることで形成され、このグルテンの性質 (粘弾性) が小麦粉の加工性に重要である。グルテンはコムギの種子貯蔵タンパク質であるグルテニンとグリアジンから構成される。グルテニンは分子間結合により多量体化してグルテンの弾性に、グリアジンは分子内結合により単量体として機能し、多量体化したグルテニンとの非共有結合によりグルテンの伸展性に関与する (Shewry 2009)。また、グルテニンとグリアジンをコードする遺伝子は多重遺伝子ファミリーを構成し、ゲノム上に塩基配列が類似する遺伝子が多数存在している。さらに、一般的な小麦粉に利用されるコムギは異質六倍体を特徴とし、A、B、D の三つのゲノムに由来する同祖染色体から構成されており、ゲノム構造が複雑である。このため、個々のタンパク質をコードする遺伝子と小麦粉の生地物性との関連について解析することは難しい。

これまでに、小麦粉の生地物性において、遺伝子の数が少ないグルテニンは小麦粉生地の弾性に関与する遺伝子型が特定されているが (Greene et al. 1988)、遺伝子の数が多いグリアジンはどの遺伝子型が伸展性に関与しているのか明らかにされていなかった。伸展性に関与するグリアジンの遺伝子型を特定できれば、グルテンの性質 (粘弾性) を用途に応じて調節することが可能となり、小麦粉の加工性をさらに高めることができる。そこで、小麦粉生地の伸展性に関与するグリアジン遺伝子を特定することを目的に研究を行った。

グリアジンはコムギ種子貯蔵タンパク質の約 40%を構成しているタンパク質である。電気泳動による移動度に基づき $\alpha$ 、 $\gamma$ 、 $\omega$ グリアジンに分類され (Jackson et al. 1983)、いずれも伸展性に関与すると考えられている。このうち、 $\alpha$ グリアジンはグリアジンの約 55%を占め (Wujun et al. 2019)、グリアジンの中で最も豊富に存在することから、伸展性に強い影響を与えると考えられる。 $\alpha$ グリアジンをコードする遺伝子は 6A、6B、6D 同祖染色体の *Gli-A2*、*Gli-B2*、*Gli-D2* 遺伝子座にそれぞれ複数の遺伝子が座乗し、ゲノム中のコピー数はコムギ種

子貯蔵タンパク質の中で最も多く、約 60 から 150 とされている (Anderson et al. 1997)。さらに、これら遺伝子の約 50%は転写や翻訳が行われない pseudogene と推測されており (Anderson and Greene 1997)、グリアジンタンパク質とそれをコードするゲノム中の  $\alpha$  グリアジン遺伝子全体の特定には至っていない。そこで、コムギゲノムに存在する  $\alpha$  グリアジン遺伝子の構成およびその発現様式を解明するために、パンコムギ標準実験品種 Chinese Spring (CS) のゲノム DNA を用いてサンガーシークエンスにより  $\alpha$  グリアジン遺伝子の塩基配列を調査した。そして、これら遺伝子を塩基配列に基づいてグループ化し、 $\alpha$  グリアジン遺伝子の発現様式を評価した (課題 1: パンコムギゲノムに存在する  $\alpha$  グリアジン遺伝子の構成および発現評価)。

小麦粉生地の伸展性に関与すると考えられている  $\alpha$  グリアジン遺伝子はコムギ種子が登熟する過程で転写・翻訳され、コムギ胚乳中にタンパク質として蓄積する。しかしながら、課題 1 でゲノム DNA から単離しグループ化した  $\alpha$  グリアジン遺伝子には転写や翻訳が行われない pseudogene が含まれるため、伸展性に関与する遺伝子を特定できない。そこで、CS ゲノムに存在する  $\alpha$  グリアジン遺伝子の中からコムギ胚乳中にタンパク質として蓄積する遺伝子を特定するために、CS 種子が登熟する過程で実際に発現している  $\alpha$  グリアジン遺伝子を調査した。そして、各遺伝子に特異的なプライマーを設計し、このプライマーを用いて日本のコムギ品種の  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型を調査し、伸展性に関与する遺伝子の特定を試みた (課題 2:  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型と小麦粉生地の伸展性との関連評価)。

日本では地域ごとに特有のコムギ在来品種が栽培されていたが、1900 年初期に交雑育種によるコムギの品種改良が開始されている (Fukunaga et al. 1985)。この品種改良はコムギの品質改善を目的としたものであり、優良形質をもった外来品種が在来品種との交配親として用いられていたことから、日本のコムギ品種は外来品種の導入によりその遺伝的多様性が変化していると考えられた。そこで、課題 2 で設計したプライマーを用いて、日本の在来品種および育成品種から構成されたコムギコアコレクションにおける  $\alpha$  グリアジン遺伝子の遺伝的多様性を評価することを目的に研究を行った (課題 3: 日本のコムギコアコレクションにおける  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型の多様性評価)。

## 2. 実験方法

### 1) 植物試料

コムギ (*Triticum aestivum* L.) の標準実験品種 Chinese Spring (CS) および第 6 群染色体異数体系統は、ナショナルバイオリソースプロジェクト・コムギより入手した。植物体を 2007 年、2008 年および 2012 年に木原生物学研究所の圃場で育成し、開花後 0 日目から 33 日目までの未熟種子を 3 日おきに採取した。日本の商業栽培コムギ 22 品種の種子は日清製粉株式会社より入手した。日本のコムギコアコレクション 95 品種の種子は農業生物資源ジーンバンクより入手した。

### 2) $\alpha$ グリアジン遺伝子の単離、およびプライマーの設計

CS のゲノム DNA を鋳型として PCR を行い、ゲノムに存在する  $\alpha$  グリアジン遺伝子を網羅

的に単離し、サンガーシーケンスにより塩基配列を決定した。塩基配列情報をもとに  $\alpha$  グリアジン遺伝子を分類し、各グループに特異的なプライマーを設計した。また、CS の未熟種子から調製した cDNA を鋳型として PCR を行い、未熟種子で発現している  $\alpha$  グリアジン遺伝子を単離し、その塩基配列を決定した。塩基配列情報をもとに各遺伝子に特異的なプライマーを設計した。各プライマーを用いて第 6 群染色体異数体系統のゲノム DNA を鋳型とした PCR を行い、増幅産物が由来する染色体を調査した。

### 3) 遺伝子発現量の解析

各グループに特異的なプライマーを用いて定量的 PCR を行い、CS の登熟期の種子における遺伝子発現量を 3 ヶ年にわたって測定した。 $\alpha$  グリアジン遺伝子の総発現量は、開花後 0 日目から 33 日目までの各発現量の積算値とした。

### 4) $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の評価

各遺伝子に特異的なプライマーを用いて、日本の商業栽培コムギ 22 品種および日本のコムギコアコレクション 95 品種のゲノム DNA を鋳型とした PCR を行い、各品種の  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型を判定した。

### 5) 小麦粉生地の伸展性の測定

日本の商業栽培コムギ 22 品種の種子からビューラーテストミルで 60%粉を作製し、アルベオコンシストグラフ (ショパンテクノロジーズ社) に供することで小麦粉生地の伸展性 (Ex 値) を測定した。

### 6) 遺伝的多様性の評価

$\alpha$  グリアジンの遺伝子型に基づいた遺伝的多様性は、PIC 値 (polymorphic information content index) で評価した。PIC 値は、 $PIC = 1 - \sum p^2$  ( $p$ : 遺伝子型の頻度) で算出した。

## 3. 研究結果

### 1) パンコムギゲノムに存在する $\alpha$ グリアジン遺伝子の構成および発現評価

#### 1-1) CS ゲノムに存在する $\alpha$ グリアジン遺伝子の調査

CS のゲノム DNA を鋳型とした PCR により、推定プロモーター領域を含む 225 個の  $\alpha$  グリアジン遺伝子を単離した。これらの中から塩基配列が完全に一致した重複遺伝子を除き、90 種の  $\alpha$  グリアジン遺伝子を同定した。このうち 50 種は完全なコード領域をもった遺伝子であり、40 種はコード領域内に終止コドンをもった pseudogene であった。

これら遺伝子の塩基配列情報をもとに系統解析を行い、11 のグループに分類した (AS1-AS11)。各グループに特異的なプライマーを用いて座乗染色体を調査したところ、AS2、7 は 6A 染色体、AS3、4、5、6 は 6B 染色体、AS1、8、9、10、11 は 6D 染色体に座乗することが確認された。

#### 1-2) $\alpha$ グリアジンの遺伝子発現の調査

開花後 0 日目から 33 日目までにおける  $\alpha$  グリアジン遺伝子の発現パターンおよび総発現量

を3年にわたって調査したところ、生育年度でそれぞれ異なっていた (Fig. 1A)。このうち、発現パターンは積算温度 (GDD-base10) との関連がみられ (Fig. 1B)、どのグループでも同様の傾向がみられた。

一方、総発現量は生育年度による違いがグループ間で異なり、3つのカテゴリーに分類された (Fig. 2)。カテゴリー1は日照時間に比例し、8グループ (AS1、2、3、4、6、7、8、10) にみられた。カテゴリー2は日照時間および積算温度の影響を受け、2グループ (AS5、11) にみられた。カテゴリー3は積算温度に比例し、1グループ (AS9) にみられた。

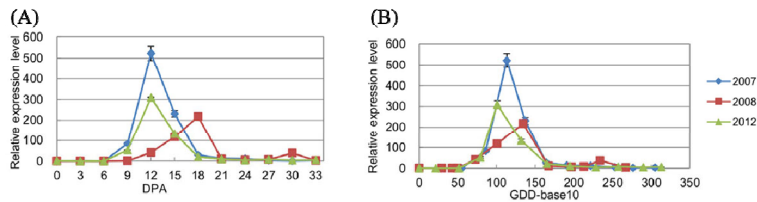


Fig. 1 CS 登熟期種子中の $\alpha$ グリアジン遺伝子の発現パターン

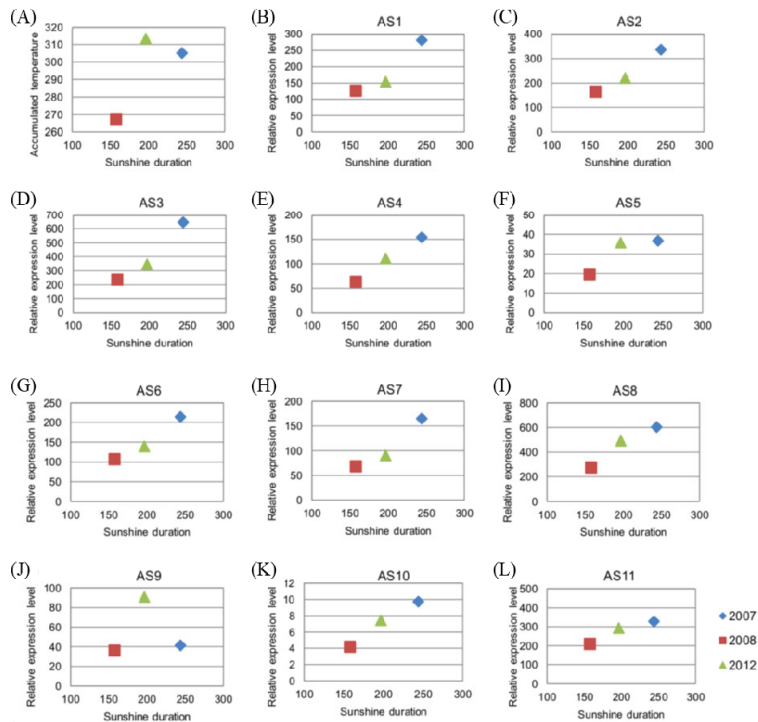


Fig. 2 日照時間と $\alpha$ グリアジン遺伝子の総発現量

## 2) $\alpha$ グリアジンの遺伝子型と小麦粉生地 の伸展性との関連評価

### 2-1) CS 未熟種子で発現する $\alpha$ グリアジン遺伝子の調査、 $\alpha$ グリアジン遺伝子に特異的なプライマーの設計

CS の未熟種子由来 cDNA を鋳型とした PCR により、139 個の  $\alpha$  グリアジン遺伝子を単離した。これらの中から塩基配列が完全に一致した重複遺伝子を除き、26 種の  $\alpha$  グリアジン遺伝子を同定した ( $\alpha 1$  -  $\alpha 26$ )。

これら遺伝子の塩基配列情報をもとに、各遺伝子に特異的なプライマーを設計した。設計したプライマーを用いて各遺伝子の座乗染色体を調査したところ、7種 ( $\alpha 1-\alpha 7$ ) は6A染色体、12種 ( $\alpha 8-\alpha 19$ ) は6B染色体、7種 ( $\alpha 20-\alpha 26$ ) は6D染色体に座乗することが確認された。

## 2-2) 日本のコムギ品種における $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の調査

設計したプライマーを用いてゲノム DNA を鋳型に PCR を行い、日本の商業栽培コムギ 22 品種および日本のコムギコアコレクション 95 品種の  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型を調査したところ、*Gli-A2* 座では 2 種、*Gli-B2* 座では 10 種、*Gli-D2* 座では 4 種の遺伝子型がみられた (Table 1)。*Gli-A2* 座の a-1 型は *Gli-A2* 座に座乗する 7 種の  $\alpha$  グリアジン遺伝子全てをもち、a-2 型は全てを欠失していた。*Gli-B2* 座の b-1 型は *Gli-B2* 座に座乗する 12 種の遺伝子全てをもち、その他の遺伝子型は一部の遺伝子を欠失していた。*Gli-D2* 座の d-1 型は *Gli-D2* 座に座乗する 7 種の遺伝子全てをもち、d-3 型は  $\alpha 25$  を除く 6 種の遺伝子をもっていた。d-2 型は 7 種の遺伝子全てをもっているが、 $\alpha 24$  よりも塩基配列の短い  $\alpha 24s$  をもっていた。d-4 型は d-2 型から  $\alpha 22$  を欠失していた。

Table 1 日本のコムギ117品種における $\alpha$ グリアジンの遺伝子型

遺伝子座	遺伝子型	コムギ品種の数		存在する $\alpha$ グリアジン遺伝子	遺伝子の数
		コムギ コアコレクション	商業栽培 コムギ		
<i>Gli-A2</i>	a-1	17	7	$\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3, \alpha 4, \alpha 5, \alpha 6, \alpha 7$	7
	a-2	79	15	-	0
<i>Gli-B2</i>	b-1	53	10	$\alpha 8, \alpha 9, \alpha 10, \alpha 11, \alpha 12, \alpha 13, \alpha 14, \alpha 15, \alpha 16, \alpha 17, \alpha 18, \alpha 19$	12
	b-2	6	1	$\alpha 8, \alpha 9, \alpha 10, \alpha 11, \alpha 12, \alpha 13, \alpha 14, \alpha 15, \alpha 17, \alpha 18, \alpha 19$	11
	b-3	15	6	$\alpha 8, \alpha 9, \alpha 10, \alpha 11, \alpha 12, \alpha 13, \alpha 14, \alpha 15, \alpha 16, \alpha 18, \alpha 19$	11
	b-4	14	1	$\alpha 8, \alpha 9, \alpha 10, \alpha 11, \alpha 12, \alpha 13, \alpha 14, \alpha 15, \alpha 18, \alpha 19$	10
	b-5	2	3	$\alpha 13, \alpha 16, \alpha 18, \alpha 19$	4
	b-6	0	1	$\alpha 16, \alpha 17$	2
	b-7	2	0	$\alpha 8, \alpha 10, \alpha 11, \alpha 12, \alpha 13, \alpha 14, \alpha 15, \alpha 16, \alpha 17, \alpha 18, \alpha 19$	11
	b-8	1	0	$\alpha 8, \alpha 9, \alpha 11, \alpha 12, \alpha 13, \alpha 14, \alpha 15, \alpha 16, \alpha 17, \alpha 18, \alpha 19$	11
	b-9	2	0	$\alpha 8, \alpha 9, \alpha 10, \alpha 11, \alpha 12, \alpha 13, \alpha 14, \alpha 16, \alpha 17, \alpha 18, \alpha 19$	11
	b-10	1	0	$\alpha 8, \alpha 9, \alpha 10, \alpha 11, \alpha 13, \alpha 14, \alpha 15, \alpha 17, \alpha 18, \alpha 19$	10
<i>Gli-D2</i>	d-1	31	9	$\alpha 20, \alpha 21, \alpha 22, \alpha 23, \alpha 24, \alpha 25, \alpha 26$	7
	d-2	50	3	$\alpha 20, \alpha 21, \alpha 22, \alpha 23, \alpha 24s, \alpha 25, \alpha 26$	7
	d-3	14	10	$\alpha 20, \alpha 21, \alpha 22, \alpha 23, \alpha 24, \alpha 26$	6
	d-4	1	0	$\alpha 20, \alpha 21, \alpha 23, \alpha 24s, \alpha 25, \alpha 26$	6

## 2-3) $\alpha$ グリアジンの遺伝子型と小麦粉生地 of 伸展性との関連調査

商業栽培コムギ 22 品種を用いて、 $\alpha$  グリアジンの遺伝子型と小麦粉生地 of 伸展性との関連を調査したところ、小麦粉生地 of 伸展性 Ex 値は、遺伝子型により異なっていた。*Gli-A2* 座では、a-1 型を示す品種は a-2 型を示す品種に比べ Ex 値が有意に高かった (Fig. 3A)。*Gli-B2* 座では、b-5 型を示す品種は b-1 型および b-3 型を示す品種に比べ Ex 値が有意に高かった (Fig. 3B)。*Gli-D2* 座では、d-1 型を示す品種は d-3 型を示す品種に比べ Ex 値が有意に高かった (Fig. 3C)。これらの結果から、*Gli-A2* 座の a-1 型、*Gli-B2* 座の b-5 型、*Gli-D2* 座の d-1 型の  $\alpha$  グリアジン遺伝子群は小麦粉生地 of 伸展性を高めることが示唆された。

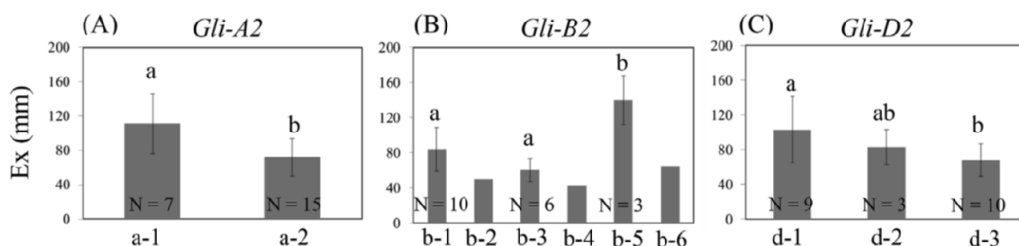


Fig. 3  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型と小麦粉生地 of 伸展性

### 3) 日本のコムギコアコレクションにおける $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の多様性評価

#### 3-1) 日本のコムギ品種における $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の多様性の調査

$\alpha$  グリアジンの遺伝子型の多様性の変遷を評価するために、日本のコムギコアコレクション 95 品種を生育年度ごとに「在来品種」「育成品種 (前期)」「育成品種 (後期)」の 3 区分に分類し、日本の商業栽培コムギ 22 品種とともにそれぞれの PIC 値を調査した。*Gli-A2* 座、*Gli-B2* 座、*Gli-D2* 座の PIC 値は、いずれも時間の経過とともに増加する傾向がみられた (Fig. 4A、B、C)。

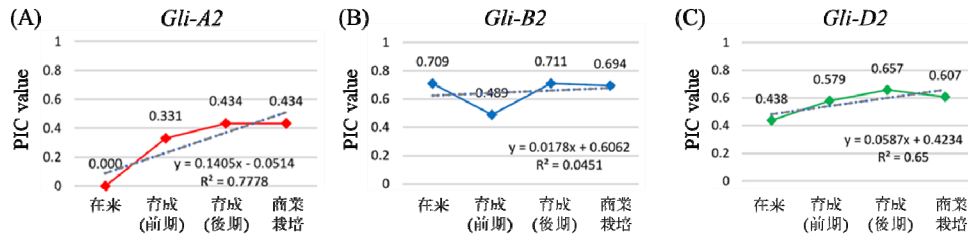


Fig. 4 日本のコムギ品種における $\alpha$ グリアジン遺伝子のPIC値

#### 3-2) 日本のコムギ品種における $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の変遷と小麦粉生地伸展性との関連調査

小麦粉生地伸展性を高める  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型 a-1 型、b-5 型、d-1 型を合わせてもつコムギ品種は、育成品種 (後期) および商業栽培品種にみられた (Table 2)。また、これら遺伝子型の頻度は、いずれも時間の経過とともに増加していた (Fig. 5)。これらの結果から、小麦粉生地伸展性を高める  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型は日本のコムギ育種の過程で選択されてきた可能性が示された。

Table 2 日本のコムギ品種における  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型セット

遺伝子型セット	日本のコムギコアコレクション			商業栽培品種
	在来品種	育成品種 前期	育成品種 後期	
a-1. b-1. d-1	-	2	-	2
a-1. b-1. d-2	-	3	1	3
a-1. b-1. d-3	-	1	-	-
a-1. b-3. d-2	-	1	-	-
a-1. b-3. d-3	-	2	2	-
a-1. b-4. d-2	-	-	1	-
a-1. b-5. d-1	-	-	2	2
a-1. b-7. d-1	-	-	1	-
a-2. b-1. d-1	6	9	3	1
a-2. b-1. d-2	6	13	3	-
a-2. b-1. d-3	-	2	2	4
a-2. b-1. d-4	1	-	-	-
a-2. b-2. d-1	-	-	-	1
a-2. b-2. d-2	4	1	1	-
a-2. b-3. d-1	1	1	-	-
a-2. b-3. d-2	2	1	-	-
a-2. b-3. d-3	-	-	5	6
a-2. b-4. d-1	1	2	1	1
a-2. b-4. d-2	7	2	-	-
a-2. b-5. d-1	-	-	-	1
a-2. b-6. d-1	-	-	-	1
a-2. b-7. d-2	-	1	-	-
a-2. b-8. d-1	-	1	-	-
a-2. b-9. d-2	2	-	-	-
a-2. b-10. d-2	-	1	-	-

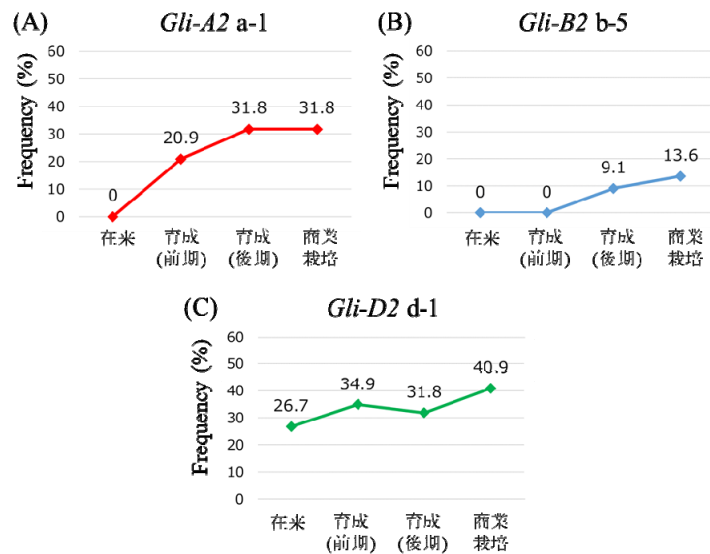


Fig. 5 日本のコムギ品種における小麦粉生地伸展性を高める $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の頻度

## 4. 討論

### 1) パンコムギゲノムに存在する $\alpha$ グリアジン遺伝子の構成および発現評価

パンコムギ標準実験品種 Chinese Spring (CS) において、ゲノムに 90 種の  $\alpha$  グリアジン遺伝子が存在し、完全なコード領域をもつ遺伝子は 50 種であった。最近のコムギの全ゲノム解読により、CS ゲノムに存在する  $\alpha$  グリアジン遺伝子 67 種が報告されている (Zhu et al. 2021)。本研究で同定した遺伝子 90 種は、ゲノム解析で同定された遺伝子の約 78% (67 種中 52 種) をカバーしていた (Fig. 6)。カバーされなかった遺伝子 15 種はいずれも partial または pseudogene であり、完全なコード領域をもつ遺伝子は全て網羅されていた。これらの結果から、本研究で同定した  $\alpha$  グリアジン遺伝子は網羅的に単離されており、その遺伝子情報は最新のコムギゲノム解析と同様に有用であると判断した。

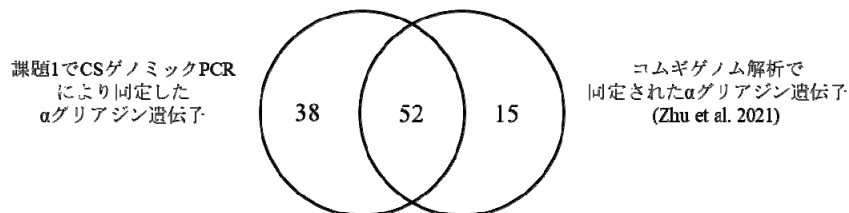


Fig. 6 CSゲノムに存在する  $\alpha$  グリアジン遺伝子の比較

$\alpha$  グリアジン遺伝子の発現パターンは、積算温度によって調節されていた (Fig. 1)。これまでに、高い生育温度によりコムギ種子の成熟速度が増加し、成熟期間が短縮することが報告されている (Wiegand and Cuellar, 1981; Wardlaw and Moncur, 1995)。これらの結果から、 $\alpha$  グリアジン遺伝子の発現パターンは、積算温度がコムギ種子の成熟速度を調節することで決定されている可能性が考えられた。

$\alpha$  グリアジン遺伝子の総発現量は積算温度と日照時間によって調節され、これらの調節は個々の遺伝子間で異なっていた (Fig. 2)。 $\alpha$  グリアジン遺伝子 11 グループのうち 8 グループは日照時間に比例して総発現量が増加し、その発現様式は  $\gamma$  グリアジン、 $\omega$  グリアジン、LMW-GS 遺伝子と類似していた。 $\alpha$  グリアジンを含むこれら遺伝子の発現は E box に結合する転写因子によって調節されることが報告されている (Dupont and Altenbach, 2003)。これらの結果から、日照時間による総発現量の調節は E box に結合する転写因子によって行われると考えられた。一方、その他の 3 グループは積算温度によって調節され、これらの調節は転写因子の E box への結合以外の様式によるものと考えられた。これまでに、コムギプロラミン遺伝子の発現を調節する因子が複数報告されており (Boudet et al. 2019; Zhu et al. 2018; Guo et al. 2015; Sun et al. 2017; Wen et al. 2012)、積算温度による総発現量の調節はこれら因子によって行われている可能性が考えられた。これらの結果から、 $\alpha$  グリアジン遺伝子の発現は温度や日照時間などの生育環境に応答する複数の調節因子によって、個々の遺伝子で異なる制御を受けている可能性が考えられた。

### 2) $\alpha$ グリアジンの遺伝子型と小麦粉生地の伸展性との関連評価

CS の登熟期種子で発現している  $\alpha$  グリアジン遺伝子 26 種を特異的に識別するプライマーを設計し、日本のコムギ品種の  $\alpha$  グリアジンの遺伝子型を判定した。遺伝子型と小麦粉生地の伸展性との関連を日本の商業栽培コムギ 22 品種を用いて調査したところ、*Gli-A2* 座の a-1

型、*Gli-B2*座のb-5型、*Gli-D2*座のd-1型は小麦粉生地 of 伸展性を高めることが示唆された (Fig. 3)。特に、*Gli-A2*座のa-1型を示すコムギ品種は、a-2型を示す品種に比べ生育年度に関わらず伸展性が高かった。a-1型は*Gli-A2*座の7種の $\alpha$ グリアジン遺伝子全てをもちa-2型は全てを欠失していること、二次元電気泳動においてa-2型を示す農林61号はa-1型を示すCSで同定された*Gli-A2*座の $\alpha$ グリアジンのスポットを欠失していたことから、a-1型を示す小麦粉生地 of 伸展性の向上は、*Gli-A2*座の7種の $\alpha$ グリアジン遺伝子の発現により、グリアジタンパク質の量が増加したためと考えられた。これまでに、QTL解析にて*Gli-A2*座が存在する6A染色体短腕はコムギ穀粒中のグリアジタンパク質の量に相関し、グリアジタンパク質の量は遺伝的要因の影響が大きいことが報告されている (Zhou et al. 2022)。これらの結果から、*Gli-A2*座の7種の $\alpha$ グリアジン遺伝子はグリアジタンパク質の量を増加させて小麦粉生地 of 伸展性を向上させることが示唆された。

### 3) 日本のコムギコアコレクションにおける $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の多様性評価

日本のコムギコアコレクションにおける*Gli-A2*座、*Gli-B2*座、*Gli-D2*座のPIC値は、いずれも時間の経過とともに増加していた (Fig. 4)。品質改善を目的とした日本のコムギ育種では、優良形質をもった外来品種が在来品種との交配親として用いられていた (Hoshino and Seko, 1996)。したがって、各*Gli-2*座における $\alpha$ グリアジン遺伝子の遺伝的多様性の増加は、交配親として用いられた外来品種に由来する $\alpha$ グリアジンの遺伝子型が日本の在来品種に導入されたためであると考えられた。

小麦粉生地 of 伸展性を高める $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の頻度は、いずれも時間の経過とともに増加していた (Fig. 5)。また、小麦粉生地 of 弾性を高めるHMW-GSの遺伝子型 (*Glu-A1a*、*Glu-A1b*、*Glu-D1d*) の頻度を調査したところ、同様に時間の経過とともに増加していた。さらに、これらHMW-GSの遺伝子型を判別するプライマー (Ahmad, 2000) は、DNAマーカーとして小麦粉の品質改善を目的としたコムギ育種に利用されている。これらの結果から、小麦粉生地 of 伸展性を高める $\alpha$ グリアジンの遺伝子型を判別するプライマーは、HMW-GS遺伝子と同様に、小麦粉の品質改善を目的としたコムギ育種に利用できる可能性が考えられた。

## 5. まとめ

- 1) 多重遺伝子ファミリーを構成する $\alpha$ グリアジン遺伝子を網羅的に特徴づけ、 $\alpha$ グリアジンの遺伝子型を判別するプライマーセットを設計することができた。
- 2)  $\alpha$ グリアジン遺伝子の発現は環境の影響を受け、発現パターンは積算温度、総発現量は個々の遺伝子によって異なり、積算温度、日照時間、またはその両方により調節されていることを明らかにした。
- 3) 特定の $\alpha$ グリアジンの遺伝子型が小麦粉生地 of 伸展性の向上に寄与することを明らかにした。これらの遺伝子型を判別するプライマーをDNAマーカーとして育種選抜に利用することで、小麦粉の生地物性の改善を目的とした品種改良が可能になることを見出した。



4) 日本のコムギ品種において、各遺伝子座における $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の多様性は交雑育種による品種改良により増加したこと、小麦粉生地 of 伸展性の向上に寄与する $\alpha$ グリアジンの遺伝子型の頻度は近年につれて増加していることを明らかにした。

## 6. 論文リスト

### 主論文

- 1) Satoshi Noma\*, Kanako Kawaura\*, Katsuyuki Hayakawa, Chikako Abe, Noritaka Tsuge, Yasunari Ogihara: Comprehensive molecular characterization of the  $\alpha/\beta$ -gliadin multigene family in hexaploid wheat. *Molecular Genetics and Genomics* 291: 65–77. 2016.  
\*These authors contributed equally to this work.
- 2) Satoshi Noma, Katsuyuki Hayakawa, Chikako Abe, Sayaka Suzuki, Kanako Kawaura: Contribution of  $\alpha$ -gliadin alleles to the extensibility of flour dough in Japanese wheat cultivars. *Journal of Cereal Science* 86: 15–21. 2019.
- 3) Satoshi Noma, Miki Yamagishi, Yasunari Ogihara, Kanako Kawaura: Characterization of  $\alpha$ -gliadin alleles of Japanese wheat cultivars in relation to flour dough extensibility and celiac disease epitopes. *Journal of Cereal Science* 109: 103591. 2023.

### 参考論文

- 1) Satoshi Noma\*, Yosuke Kikuchi, Megumi Satou, Tomoki Tanaka, Toshiyuki Takiya, Hideki Okusu, Satoshi Futo, Reona Takabatake, Kazumi Kitta, Junichi Mano: Simple, precise, and less biased GMO quantification by multiplexed genetic element-specific digital PCR. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 105 (1): 159–166. 2022.

## 7. その他 (学会発表)

### 国内学会 (口頭)

- 1) 野間聡、早川克志、阿部千香子、鈴木彩夏、川浦香奈子 国内産パンコムギを用いた小麦粉生地伸展性に寄与する $\alpha$ -グリアジン遺伝子の解析 日本育種学会第136回講演会 2019年9月。

### 国際学会 (ポスター)

- 1) Satoshi Noma, Katsuyuki Hayakawa, Kanako Kawaura, Yasunari Ogihara: Molecular characterization of the  $\alpha/\beta$ -gliadin multigene family in hexaploid wheat. The 12<sup>th</sup> International Wheat Genetics Symposium (Yokohama Japan). 2013.

## 8. 用語集

### 1) 遺伝子座

特定の遺伝子が存在する染色体上の位置のこと。通常、一つの遺伝子座には一つの遺伝子が存在する。しかし、多重遺伝子ファミリーを構成するグリアジンやグルテニンをコードする遺伝子座には複数の遺伝子が存在し、 $\alpha$  グリアジン遺伝子が存在する遺伝子座 (*Gli-A2*、*Gli-B2*、*Gli-D2* 遺伝子座) には、それぞれ複数の  $\alpha$  グリアジン遺伝子が存在する。

### 2) グルテニン

コムギ種子に含まれるタンパク質の一つで、分子間結合により多量体を形成し、グルテンに弾性を付与するといわれる。分子量の違いにより、高分子量グルテニンサブユニット (HMW-GS) と低分子量グルテニンサブユニット (LMW-GS) に分類される。HMW-GS 遺伝子は *Glu-A1*、*Glu-B1*、*Glu-D1* 遺伝子座に、LMW-GS 遺伝子は *Glu-A3*、*Glu-B3*、*Glu-D3* 遺伝子座に座乗する。