

京都大学	博士（農学）	氏名	Govinda Rizal
論文題目	Genetic control of proanthocyanidin content and radical scavenging activities in soybean (ダイズにおけるプロアントシアニジン含量およびラジカル消去能の遺伝的制御)		
(論文内容の要旨)			
ダイズの種皮は、抗酸化能など生理機能活性をもつプロアントシアニジンを含んでいる。食の健康への寄与はますます注目を浴びており、生理機能性向上等の付加価値をもつ作物の育種は今後さらに盛んになると思われる。しかし、ダイズのプロアントシアニジンの蓄積・制御機構については未解明である。本研究は、ダイズにおけるプロアントシアニジン含量およびラジカル消去能の品種間差異を明らかにしたのち、組換え近交系を用いた量的形質遺伝子座（QTL）解析によって関与遺伝子座領域を同定するとともに、その遺伝的制御機構について考察したものである。プロアントシアニジンおよびラジカル消去能（抗酸化能）の測定には、種皮を70%アセトンに24時間浸漬した上澄みを供試した。プロアントシアニジン含量は、塩酸-ブタノール法に従って、5倍量の塩酸-ブタノールを加えた上澄み（95℃で30分間加温）の波長548nmでの吸光度の上昇量とした。ラジカル消去能は、DPPH（2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl）法に従って、80%エタノールに溶解したDPPHを加えた上澄み（25℃で20分加温）の波長520nmでの吸光度が無添加区の50%に減少する量とした。以下に、成果の概要を示す。 1. ダイズ47品種を供試してプロアントシアニジン含量およびラジカル消去能を調べたところ、プロアントシアニジン含量には0～1000ABS.ml.g⁻¹の変異があり、黄豆および緑豆品種ではきわめて低く、黒豆および茶豆品種では顕著に高いことが認められた。しかし、黒豆および茶豆品種間にもそれぞれ大きな変異があり、着色関連遺伝子以外の遺伝子がプロアントシアニジンの制御機構に関与していることが示唆された。また、ラジカル消去能も黄豆および緑豆品種では低く、黒豆および茶豆品種ではきわめて高かった。プロアントシアニジン含量とラジカル消去能の間にはきわめて強い正の相関（黒豆品種：r²=0.87、茶豆品種：r²=0.96）があり、ダイズの抗酸化能は主にプロアントシアニジンによるものであることが明らかになった。 2. プロアントシアニジン含量がきわめて高い黒豆品種ペキン（861ABS.ml.g⁻¹）と全く含まない黄豆品種タマホマレ（0ABS.ml.g⁻¹）との間で正逆交雑を行い、これに由来する組換え近交系（PT-RIL：ペキン×タマホマレ、TP-RIL：タマホマレ×ペキン）を育成した。878のSSRマーカーを用いて両親間の多型を調査したところ、568マーカー（65%）が多型を示した。そのうち288マーカーを用いて、総距離2846cM、マーカー間平均距離10cMの連鎖地図を作製した。2007年および2008年に栽培したPT-RIL96系統およびTP-RIL84系統を供試して、プロアントシアニジン含量およびラジカル消去能に関するQTL解析を行ったところ、どちらのRIL集団においても連鎖群A2および連鎖群C2に寄与率の大きなQTLが検出された。これらは着色関連遺伝子（I およびT）の座乗領域と一致した。 3. 着色関連遺伝子座以外のQTLを検出するため、同じ着色関連遺伝子をもつ系統ご			

とにQTL解析を行った。その結果、プロアントシアニジン含量およびラジカル消去能のどちらについても、ほぼ同じ領域にそれぞれ19個のQTLが検出された。座乗位置と効果から、プロアントシアニジン含量に関するQTLは8個のQTL（PAC01-PAC08）に統合された。PAC01およびPAC02は、それぞれT座およびI座と座乗位置が一致したが、残りの6QTL（PAC03-PAC08）は着色関連遺伝子座以外の領域に位置していた。これらQTLの座乗領域には冠水抵抗性や病害抵抗性等に関するQTLが報告されており、プロアントシアニジンおよびラジカル消去能がこれらのストレスに対する耐性を付与している可能性があると考えられた。

4. 以上の結果から、ダイズ種皮におけるプロアントシアニジンの生成は、種皮着色遺伝子に強く支配されているが、それ以外の遺伝子にも支配されていること、および、これらの遺伝子がストレス耐性にも関与していることが明らかになった。したがって、着色とは無関係のQTLを導入することにより、プロアントシアニジン含量およびラジカル消去能が高く、しかもストレス耐性が強い黄豆品種の育成が可能であると考えられた。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

ダイズ種子はタンパク質や脂質のみならずイソフラボンやサポニン等の機能性成分を含んでいる。抗酸化能をもつプロアントシアニジンはダイズ種皮に多く含まれ、ダイズの新たな機能性成分として注目を浴びている。しかしながら、ダイズにおけるプロアントシアニジンの蓄積や制御に関する遺伝的メカニズムについては未知の部分が多い。本研究は、プロアントシアニジン含量の品種間差異を明らかにするとともに、プロアントシアニジンの蓄積・制御に関わる遺伝子座を同定したものである。本研究の評価すべき点は以下のとおりである。

1. ダイズ47品種のプロアントシアニジン含量およびラジカル消去能を調べ、プロアントシアニジンの品種間変異は0~1000ABS.ml.g⁻¹の範囲にあり、黄豆および緑豆品種にはほとんど含まれていないが、黒豆および茶豆品種で多く含まれていることを明らかにした。しかし、黒豆および茶豆にはそれぞれ大きな品種間差異があり、着色関連遺伝子以外の遺伝子がプロアントシアニジンの制御機構に関与していることを明らかにした。一方、ラジカル消去能に関しては黄豆および緑豆品種では弱く、黒豆および茶豆品種できわめて高いことを明らかにした。さらに、プロアントシアニジン含量とラジカル消去能間にはきわめて強い正の相関があることを認め、ダイズのラジカル消去能はプロアントシアニジンの量によることを明らかにした。

2. プロアントシアニジン含量がきわめて高い黒豆品種ペキンと全く含まない黄豆品種タマホマレとの正逆交雑に由来する2種類の組換え近交系を用いて、288個のSSRマーカーから成る総距離2846cM、マーカー間平均距離10cMの連鎖地図を作製した。組換え近交系2集団を供試してプロアントシアニジン含量およびラジカル消去能を調査してQTL解析を行い、2集団共通の効果の大きいQTLを検出し、これらの領域が着色関連遺伝子(IおよびT)の座乗領域と一致することを明らかにした。

3. 同じ着色関連遺伝子をもつ系統ごとにQTL解析を行って検出した19個のQTLを、座乗位置と効果に基づいて8個のQTL(PAC01-PAC08)に統合し、これらQTLが冠水抵抗性あるいは病害抵抗性等に関するQTLと一致することを認め、プロアントシアニジンおよびラジカル消去能がストレス耐性と関連していることを指摘した。

以上のように、本論文は、ダイズ種皮のプロアントシアニジン含量の増減に関与する遺伝子とその座乗領域を同定したものであり、植物育種学のみならず、食品機能学、栄養学、植物遺伝学および植物生理学の発展に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成22年2月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。
要旨公開可能日: 年 月 日以降