

タンパク質変異米水稻品種の米粒内における種子貯蔵タンパク質の分布

大平陽一・竹田博之・佐々木良治

(近畿中国四国農業研究センター)

要旨：タンパク質変異米水稻品種の米粒内における種子貯蔵タンパク質の分布特性を明らかにするために、搗精歩合の異なる米粒のタンパク質含有量を調査し、米粒内の層別のタンパク質含有量と存在割合を算出した。タンパク質変異米水稻品種では、一般食用水稻品種「ニホンマサリ」と同様に、米粒の外層部である100～>80%層に総タンパク質の44～45%が存在した。一方、易消化性タンパク質は、いずれの品種も100～>80%層に44～48%が存在したが、「ニホンマサリ」では90～>80%層に最も多く、タンパク質変異米水稻品種では100～>90%層に最も多かった。タンパク質変異米水稻品種において易消化性タンパク質が最外層に多く集積する傾向は、低グルテリン米水稻品種より低グルテリン・26 kDa グロブリン欠失米水稻品種で顕著だった。「ニホンマサリ」では、主要な易消化性タンパク質である37-39 kDa グルテリン α と22-23 kDa グルテリン β が90～>80%層に多く存在しているのに対し、タンパク質変異米水稻品種では、37-39 kDa グルテリン α や22-23 kDa グルテリン β の量が低下し、相対的に易消化性タンパク質に占める割合が高くなった57 kDa 超過タンパク質と57 kDa タンパク質が100～>90%層に最も多く存在していた。したがって、易消化性タンパク質の分布における品種間差異は、これらのタンパク質画分の分布特性の差異を反映したことによると推察された。易消化性タンパク質は、80～>70%層を含む層よりも内層部ではより少ない割合でしか存在しなかったため、玄米から易消化性タンパク質を効率的に低減するには、80%程度の搗精歩合が望ましいと考えられた。

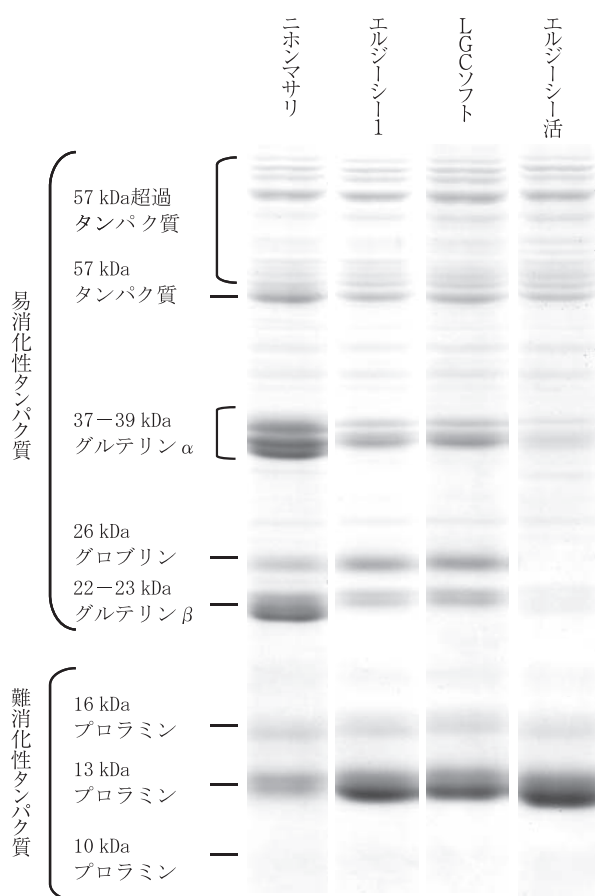
キーワード：易消化性タンパク質、水稻、タンパク質変異米水稻品種、タンパク質分布、貯蔵タンパク質、低グルテリン、搗精歩合、米粒。

水稻の種子貯蔵タンパク質は、主にデンプン性胚乳に蓄積され、その他に糊粉層などにも存在する。デンプン性胚乳に存在するタンパク質顆粒(プロテインボディ)は、プロラミンを主要な構成要素とするプロテインボディタイプ I (PB-I) と、グルテリンやグロブリンを主に集積するプロテインボディタイプ II (PB-II) に分けられる(Tanaka ら 1980, Ogawa ら 1987)。PB-I は年輪構造を示すとともに(Tanaka ら 1980, Ogawa ら 1987)、ペプシンによる消化に対して難消化性であり(Ogawa ら 1987, 田中ら 1988)、人の排泄物中に存在する米由来のタンパク質は年輪構造を示す顆粒であることが電子顕微鏡観察によって明らかにされている(Tanaka ら 1975) ことから、PB-I は難消化性タンパク質とされている。また、一般食用水稻品種の PB-I は、胚乳における総タンパク質含有量のおよそ 20% を占めており(Ogawa ら 1987)、残りの 80% 程度は易消化性タンパク質と考えられている。

近年、突然変異を誘発して易消化性タンパク質の割合を減らしたタンパク質変異米水稻品種が複数育成され(西村 2002, 上原ら 2002, 飯田ら 2004, Nishimura ら 2005)、それらには、*Lgc1* 遺伝子(Iida ら 1993, 飯田ら 1993)を持つ低グルテリン米水稻品種や、*Lgc1* 遺伝子と *glb1* 遺伝子(Iida ら 1998)を持つ低グルテリン・26 kDa グロブリン欠失米水稻品種などがある。低グルテリン米水稻品種の利用は、タンパク質の摂取を制限された腎疾患患者の食事療法

に幅を持たせることができるとともに、米飯を主食とする患者の腎機能障害進行の抑制に有用と考えられるとの見解が臨床実験の結果から示されている(望月・原 2000)。国内では、腎疾患による食事療法実施患者が 10 万人、食事療法が必要な患者とその予備軍は合わせて 104 万人いると推計されており(シード・プランニング 2004)、易消化性タンパク質の割合を減らしたタンパク質変異米水稻品種は、病態食としての利用が期待されている。

タンパク質変異米水稻品種は、一般食用水稻品種と比較して易消化性タンパク質の割合は低いが、多肥栽培では総タンパク質含有量が増加するので易消化性タンパク質含有量も増加する(西村ら 2007) ことや、タンパク質変異米水稻品種の玄米あるいは 90% 搗精した白米のタンパク質組成は、一般食用水稻品種と大きく異なるなど(西村 2002, 上原ら 2002, 飯田ら 2004, Nishimura ら 2005) から、米粒内におけるタンパク質の分布は一般食用水稻品種と異なる可能性が高い。したがって、どの程度の搗精が、易消化性タンパク質含有量の低減に効率的なのかを判断するためには、プロラミンやグルテリンなどの種子貯蔵タンパク質の米粒内の分布を定量的に明らかにする必要がある。一般食用水稻品種では、搗精によって削られた部分の米粉を回収し、層別のタンパク質含有量を分析した報告(静川ら 2002)があるが、タンパク質変異米水稻品種を対象とした報告は見あたらない。Furukawa ら (2003) は、抗体を用



第1図 精玄米から抽出したタンパク質のSDS-PAGEによる泳動像。

いて米粒内のプロラミンとグルテリンの分布を調査し、一般食用米品種や酒造好適米品種のプロラミンは、70%搗精した白米の内層部にはわずかしが観察されなかったが、低グルテリン米品種・系統では、白米の内層部にも多く存在し、米粒内のタンパク質の分布に差異があることを示唆しているが、定量的な検討は行われていない。したがって、病態食としての利用を考える場合には、米粒内におけるタンパク質の分布特性について、タンパク質変異米品種と一般食用米品種との差異を定量的に明らかにすることが必要である。

そこで本研究では、低グルテリン米品種や易消化性タンパク質の割合をさらに低下させた低グルテリン・26 kDa グロブリン欠失米品種の玄米ならびに搗精歩合の異なる白米のタンパク質組成やタンパク質含有量から、米粒内の層別のタンパク質含有量や層別の存在割合を明らかにし、一般食用米品種と比較することによって、タンパク質変異米品種の米粒内におけるタンパク質の分布特性を検討することを目的とした。

材料と方法

タンパク質変異米品種「エルジーシー1」、LGCソフト」および「エルジーシー活」を供試し、対照品種には

「ニホンマサリ」を用いた。「エルジーシー1」は、「ニホンマサリ」のエチレンジン処理により突然変異体として選抜された低グルテリン系統NM67に「ニホンマサリ」を交配して育成された低グルテリン米品種であり(西村2002)。「LGCソフト」は、「ニホンマサリ」の低アミロース突然変異系統NM391に「エルジーシー1」を交配して育成された低グルテリン米品種である(飯田ら2004)。「エルジーシー活」は、「エルジーシー1」にコシヒカリの26 kDa グロブリン欠失突然変異系統を交配して育成された低グルテリン・26 kDa グロブリン欠失米品種である(Nishimuraら2005)。したがって、「エルジーシー1」と「LGCソフト」はタンパク質変異米遺伝子として低グルテリン遺伝子 *Lgc1* (Iidaら1993, 飯田ら1993) を持ち、「エルジーシー活」は低グルテリン遺伝子 *Lgc1* と26 kDa グロブリン欠失遺伝子 *glb1* (Iidaら1998) を共に持つ品種である。

2003年4月18日に水稻育苗培土(みのる産業社)を詰めた育苗箱(14×32穴, みのる産業社)に催芽種子を1穴当たり1粒播種した。播種後は慣行法に準じて25日間育苗した。5月13日に苗(苗齢4.6~4.9)を近畿中国四国農業研究センター内の水田(広島県福山市, 細粒灰色低地土)に条間30 cm 株間25 cm, 1株1本で手植えた。各品種の栽培面積は12 m²とし、3反復の乱塊法で配置した。肥料は、基肥としてN, P₂O₅, K₂Oをそれぞれm²当たり4 g施用し、移植後27日目には追肥としてNをm²当たり2 g施用した。この他に、「エルジーシー活」では移植後60日目に、「エルジーシー活」を除く品種では移植後63日目にNをm²当たり4 g施用した。成熟期には各反復42株(3.2 m²)を刈取り、楠田(1995)の方法に準じて収量と収量構成要素を調査した。なお、本報告では粒厚1.8 mm以上の玄米を精玄米とし、精玄米重と玄米千粒重は水分15%換算値として表示した。

調製した精玄米は、精米機(RICEPAL31, 山本製作所)で90%に搗精し、さらに研削型の精米機(Grain Testing Mill TM-05, サタケ)で80%, 70%, 60%および50%に搗精した。これら搗精した白米と精玄米のそれぞれ約25 gを、粉碎機(Cyclone Sample Mill, UDY Corporation, USA)で粉碎して以下の試料とした。

粉碎した試料は80℃で3日以上乾燥し、元素分析装置(rapidN III, エレメンタル社, Germany)を用いて燃焼法によって窒素含有率を測定した。総タンパク質含有量は、米のタンパク質換算係数5.95を乗じて算出した。タンパク質は、SDS-Urea溶液(4% SDS, 8 M Urea, 5%メルカプトエタノール, 125 mM Tris-HCl (pH 6.8), 20%グリセリン)で抽出した後、ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)を行った(西尾1996)。そして、一次元電気泳動ゲル解析用ソフトウェア(Phoretix 1 D Advanced, コスモ・バイオ)を用いて、ゲルの画像を57 kDa超過タンパク質(分子量57 kDaを超える複数のタンパク質の合計)、57 kDaタンパク質(37-39 kDaグルテリンαと22-

第1表 出穂期と収量構成要素および収量.

品種	出穂期	穂数 (本 m ⁻²)	1穂粒数 (粒)	総粒数 (千粒 m ⁻²)	玄米千粒重 (g)	登熟歩合 (%)	精玄米重 (g m ⁻²)
エルジーシー1	8月5日	342 a	86.0 b	29.4 a	24.0 a	87.5 b	619 a
LGCソフト	8月5日	325 a	94.3 a	30.6 a	21.6 c	88.0 b	583 b
エルジーシー活	7月21日	333 a	79.9 c	26.6 b	19.9 d	90.8 a	480 c
ニホンマサリ	8月4日	336 a	88.2 b	29.6 a	23.7 b	86.4 b	606 ab

同一英文字間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey 法).

23 kDa グルテリンβの前駆体の重合体), 37–39 kDa グルテリンα, 26 kDa グロブリン, 22–23 kDa グルテリンβ, 16 kDa プロラミン, 13 kDa プロラミン, 10 kDa プロラミンに分類して定量した (第1図). これらタンパク質画分の合計値を100%として各タンパク質画分の割合を算出し, 総タンパク質含有量に各タンパク質画分の割合を乗じて含有量を算出した. 本論文では, 既報 (西村 2002, 上原ら 2002, 飯田ら 2004, Nishimura 2005) に準じて, 16 kDa プロラミン, 13 kDa プロラミン, 10 kDa プロラミンの合計を難消化性タンパク質, 難消化性タンパク質以外のタンパク質を易消化性タンパク質とした.

各タンパク質画分の米粒内における層別の含有量と各画分の存在割合は, 以下によって算出した. 精玄米 (搗精歩合100%) と搗精歩合90%の米粒内のタンパク質含有量の差を100~>90%層のタンパク質含有量とした. 次に, 100~>90%層のタンパク質含有量を精玄米のタンパク質含有量で除して100~>90%層におけるタンパク質の存在割合を算出した. 同様に搗精歩合の異なる米粒内の各タンパク質含有量の差を算出し, 精玄米のタンパク質含有量で除して, 90~>80%層, 80~>70%層, 70~>60%層, 60~>50%層, 50~>0%層における各タンパク質の存在割合を算出した.

結 果

1. 生育と収量

出穂期と収量構成要素および収量を第1表に示した. 「エルジーシー活」の出穂期は最も早く7月21日であり, それ以外の品種の出穂期は8月4~5日であった. 「エルジーシー活」は1穂粒数が少なく, その結果, 粒数も26.6千粒 m⁻²と最も少なかった. また, 登熟歩合は他の3品種よりやや高かったが, 千粒重が軽かったため精玄米重は480 g m⁻²と最も低かった. 「エルジーシー活」を除く3品種の粒数は29.4~30.6千粒 m⁻², 登熟歩合は86.4~88.0%であり, 品種間差は認められなかった. 「ニホンマサリ」と「エルジーシー1」の玄米千粒重には有意差が認められたが, その違いはわずかであり, これら2品種の精玄米重はほぼ同等であった. 一方, 「LGCソフト」は「エルジーシー1」や「ニホンマサリ」より玄米千粒重が軽く, 精玄米重も「エルジーシー1」より36 g m⁻²低かった.

2. 米粒内におけるタンパク質の層別含有量

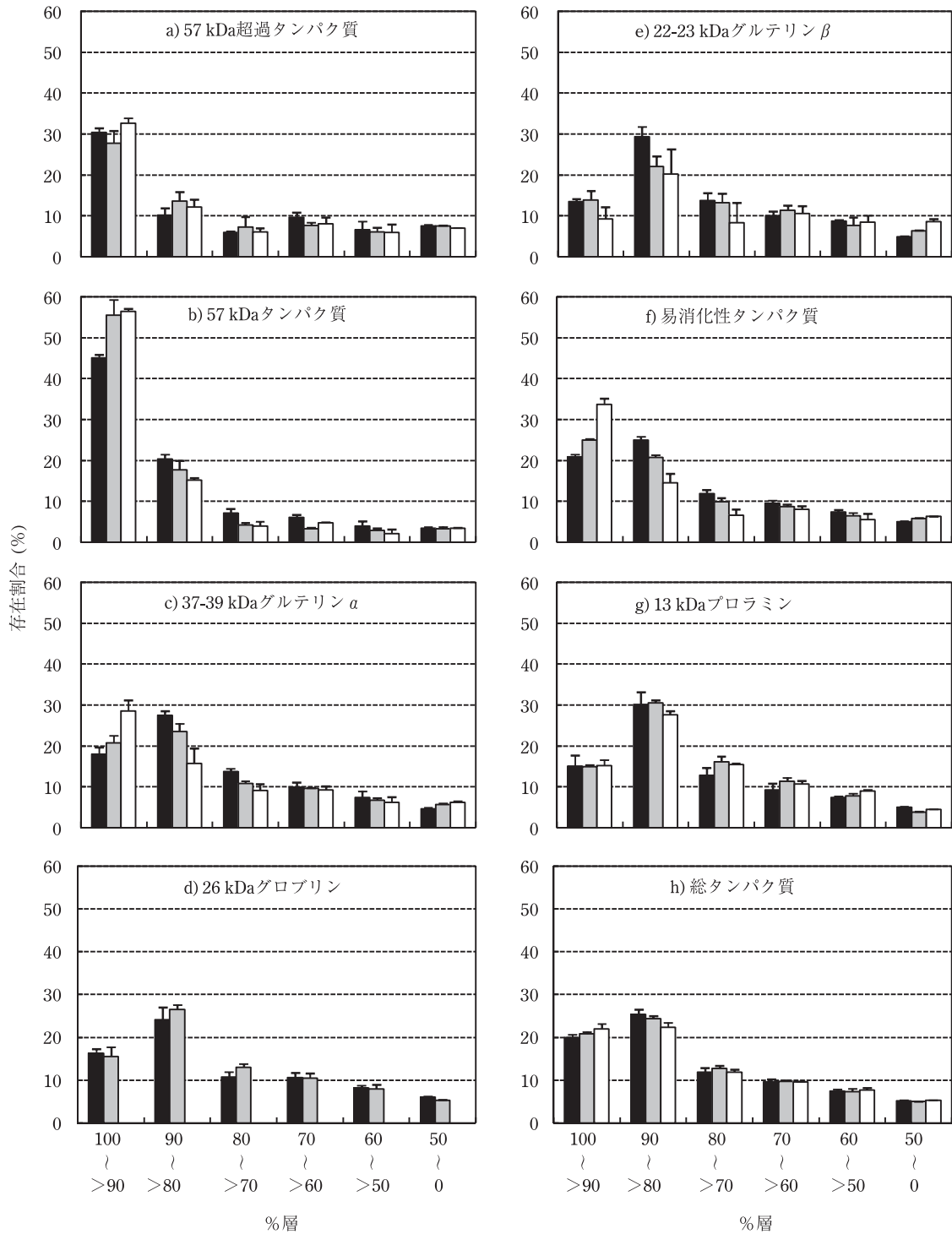
精玄米のタンパク質含有量と搗精歩合の異なる米粒のタンパク質含有量の差から算出した層別のタンパク質含有量を第2表に示した. 「エルジーシー1」と「LGCソフト」の精玄米の易消化性タンパク質含有量は「ニホンマサリ」の62~68%であり, 「エルジーシー活」では41%とさらに少なかった. 一方, 難消化性タンパク質含有量は, 「ニホンマサリ」よりもタンパク質変異米水稻品種の方が多く, その傾向は「エルジーシー1」や「LGCソフト」よりも「エルジーシー活」で顕著であった.

易消化性タンパク質に分類される57 kDa 超過タンパク質と57 kDa タンパク質の含有量は, タンパク質変異米水稻品種, 「ニホンマサリ」とともに100~>90%層が最も多く, 90~>80%層がこれに続き, 80~>70%層より内側では含有量が少なく, 内側にいくほど低下, あるいは一定であった. 57 kDa 超過タンパク質は, いずれの層でも「ニホンマサリ」よりタンパク質変異米水稻品種の方がやや多く, 中でも「エルジーシー活」で多かった. 57 kDa タンパク質含有量は, 100~>90%層では品種間差がみられなかったが, それよりも内側では「ニホンマサリ」よりタンパク質変異米水稻品種の方がやや少なかった. 37–39 kDa グルテリンα含有量は, 「ニホンマサリ」では90~>80%層で最も多く, 80~>70%層よりも内側では徐々に低下した. 一方, 「エルジーシー1」や「LGCソフト」でも37–39 kDa グルテリンα含有量は90~>80%層で最も多かったが, 100~>90%層との差異は小さく, 「エルジーシー活」では, 100~>90%層が最も多かった. そして, その含有量は米粒の内側ほど低下した. 各層における37–39 kDa グルテリンα含有量は, 「ニホンマサリ」よりも「エルジーシー1」や「LGCソフト」の方が明らかに少なく, 「エルジーシー活」はこれら2品種よりもさらに少なかった. 26 kDa グロブリンは, 「エルジーシー1」, 「LGCソフト」および「ニホンマサリ」とともに90~>80%層で最も高い含有量を示し, それよりも内側では徐々に低下した. また, いずれの層においても, 「ニホンマサリ」より「エルジーシー1」と「LGCソフト」の方が含有量が多かった. 22–23 kDa グルテリンβ含有量は, いずれの品種とも90~>80%層で最も多く, 傾向としては37–39 kDa グルテリンαと類似した. これら5つのタンパク質画分の総量である易消化性タンパク質含有量は, タンパク質変異米水稻品種では100~>90%層

第2表 精玄米と搗精各層における易消化性および難消化性タンパク質含有量.

品種および 精玄米・搗精各層	易消化性タンパク質含有量 (μg/粒)					合計	難消化性タンパク質含有量 (μg/粒)			総タンパク質 含有量 (μg/粒)	
	57 kDa 超過 タンパク質	57 kDa タンパク質	37-39 kDa グルテリン α	26 kDa グロブリン β	22-23 kDa グルテリン		16 kDa プロラミン	13 kDa プロラミン	10 kDa プロラミン		合計
エルジーシー 1											
精玄米	174.1	99.5	181.2	160.8	110.9	726.4	118.2	613.1	27.1	758.4	1484.7
100 ~> 90%層	48.2	55.3	37.5	25.1	15.4	181.4	25.7	91.8	9.9	127.4	308.9
90 ~> 80%層	23.8	17.5	42.7	42.6	24.5	151.1	20.0	186.7	4.3	211.0	362.1
80 ~> 70%層	12.8	4.2	19.7	21.0	14.7	72.3	14.9	98.9	3.1	117.0	189.2
70 ~> 60%層	13.3	3.2	17.4	16.9	12.7	63.5	10.8	69.5	1.0	81.3	144.9
60 ~> 50%層	10.6	2.9	12.3	12.9	8.6	47.3	10.1	48.0	2.9	61.0	108.3
50 ~ 0%層	65.3	16.3	51.6	42.4	35.1	210.8	36.7	118.1	5.8	160.6	371.4
(50 ~ 0%層)	(13.1)	(3.3)	(10.3)	(8.5)	(7.0)	(42.2)	(7.3)	(23.6)	(1.2)	(32.1)	(74.3)
LGC ソフト											
精玄米	191.1	106.9	212.0	165.1	120.0	795.1	100.1	525.3	20.6	641.0	1436.1
100 ~> 90%層	52.6	54.0	40.4	26.0	15.1	188.2	18.8	79.3	6.3	99.4	287.6
90 ~> 80%層	27.2	20.5	48.0	41.0	26.9	163.6	19.4	156.8	3.8	180.0	343.6
80 ~> 70%層	13.9	6.6	28.0	24.7	17.1	90.2	12.5	91.1	3.0	106.5	196.7
70 ~> 60%層	15.5	4.8	21.2	17.8	13.1	72.4	9.0	59.2	1.5	69.6	142.0
60 ~> 50%層	11.4	3.2	16.5	12.4	10.2	53.7	8.5	35.9	0.7	45.1	98.8
50 ~ 0%層	70.4	17.8	57.9	43.2	37.6	226.9	31.9	103.1	5.4	140.4	367.4
(50 ~ 0%層)	(14.1)	(3.6)	(11.6)	(8.7)	(7.5)	(45.4)	(6.4)	(20.6)	(1.1)	(28.1)	(73.5)
エルジーシー活											
精玄米	221.2	97.0	104.1	—	58.4	480.7	104.2	768.0	31.7	904.0	1384.6
100 ~> 90%層	72.1	54.8	29.6	—	5.4	161.9	18.8	116.6	7.9	143.2	305.1
90 ~> 80%層	26.9	14.7	16.5	—	11.8	69.9	21.6	211.7	6.3	239.5	309.5
80 ~> 70%層	13.3	3.9	9.4	—	4.9	31.5	11.1	118.8	3.6	133.5	165.0
70 ~> 60%層	17.7	4.6	9.7	—	6.2	38.3	10.4	82.0	2.6	94.9	133.3
60 ~> 50%層	13.4	2.1	6.5	—	4.9	27.0	8.9	68.7	2.7	80.4	107.3
50 ~ 0%層	77.7	16.8	32.4	—	25.1	152.1	33.5	170.3	8.7	212.4	364.5
(50 ~ 0%層)	(15.5)	(3.4)	(6.5)	—	(5.0)	(30.4)	(6.7)	(34.1)	(1.7)	(42.5)	(72.9)
ニホンマサリ											
精玄米	145.7	121.7	482.6	80.6	341.1	1171.6	80.9	218.9	21.6	321.3	1493.0
100 ~> 90%層	44.2	54.8	86.7	13.1	46.0	244.8	15.0	33.1	4.9	53.1	297.8
90 ~> 80%層	14.8	24.8	132.7	19.5	100.1	291.9	17.0	66.0	4.1	87.1	379.0
80 ~> 70%層	8.6	8.6	66.1	8.7	46.8	138.9	6.8	28.2	2.6	37.6	176.5
70 ~> 60%層	14.0	7.4	48.0	8.6	34.1	112.0	7.7	20.3	2.6	30.6	142.6
60 ~> 50%層	9.7	4.8	36.0	6.6	29.9	87.0	5.7	16.2	1.9	23.8	110.8
50 ~ 0%層	54.4	21.2	113.1	24.2	84.2	297.1	28.6	55.1	5.5	89.2	386.3
(50 ~ 0%層)	(10.9)	(4.2)	(22.6)	(4.8)	(16.8)	(59.4)	(5.7)	(11.0)	(1.1)	(17.8)	(77.3)
分散分析											
品種	***	***	***	***	***	***	***	***	ns	***	***
精玄米・搗精各層	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
品種×精玄米・ 搗精各層	***	ns	***	***	***	***	ns	***	*	***	***

括弧内の数値は、50~0%層と他の層との比較のために1/5倍した値を示した。*, **, *** はそれぞれ5, 1, 0.1%水準で有意、ns は5%水準で有意でないことを示す。26 kDa グロブリンについては、「エルジーシー活」を除いて分散分析を行った。



第2図 米粒内における層別のタンパク質の存在割合。

■:「ニホンマサリ」, ▒:「エルジーシー 1」, □:「エルジーシー活」. 「LGCソフト」は、「エルジーシー 1」と同様の傾向を示したためデータを省略した. 50~0%層は、他の層との比較のために1/5倍した値を示した. 垂線は標準偏差を示す.

で最も多く、「ニホンマサリ」では90~>80%層で最も多かった. そして、易消化性タンパク質含有量は、いずれの層でも「ニホンマサリ」、「LGCソフト」、「エルジーシー 1」、「エルジーシー活」の順に多かった.

難消化性タンパク質の主要なタンパク質画分である13

kDaプロラミンは、タンパク質変異米水稻品種では難消化性タンパク質含有量の81~85%、「ニホンマサリ」では68%を占めた. このタンパク質画分は、いずれの品種でも90~>80%層で最も多く、この層より内層部では内側ほど低下した. 各層における13 kDaプロラミン含有量は、「エ

ルジーシー 1」や「LGC ソフト」では「ニホンマサリ」よりも 1.9~3.5 倍多く、「エルジーシー活」では「ニホンマサリ」の 3.1~4.3 倍であった。16 kDa プロラミンと 10 kDa プロラミンは、100~> 90%層や 90~> 80%層で多かった。16 kDa プロラミン含有量は、いずれの層でも「ニホンマサリ」よりタンパク質変異米水稻品種の方がやや多かったが、13 kDa プロラミンと比較すると各層における含有量の品種間差は小さかった。これら 3 つのタンパク質画分の総量である難消化性タンパク質含有量は、13 kDa プロラミンと同様に 90~> 80%層で最も多く、この層より内層部では内側ほど低下した。

易消化性タンパク質含有量と難消化性タンパク質含有量の総計である総タンパク質含有量は、いずれの品種も 90~> 80%層で最も多かったが、「エルジーシー活」では 100~> 90%層にもほぼ同量存在した。そして、80~> 70%層を含む内層部では内側ほど低下した。

3. 米粒内におけるタンパク質の層別存在割合

米粒内におけるタンパク質の分布を明らかにするために、各層に含まれるタンパク質含有量を精玄米のタンパク質含有量で除して層別のタンパク質の存在割合を算出し第 2 図に示した。50~0%層の存在割合は、他の層との比較を容易にするために 1/5 を乗じた値で示した。

57 kDa 超過タンパク質の存在割合は、100~> 90%層が 28~33%、90~> 80%層から内層部では 6~14%であった (第 2 図 a)。57 kDa タンパク質は、100~> 90%層で 45~57%と最も高く、90~> 80%層では 15~20%、80~> 70%層およびその内層部では 2~7%であった (第 2 図 b)。また、100~> 90%層における 57 kDa タンパク質の存在割合はタンパク質変異米水稻品種で高かった。37~39 kDa グルテリン α 、26 kDa グロブリンおよび 22~23 kDa グルテリン β の存在割合は、「エルジーシー活」の 37~39 kDa グルテリン α を除いて、90~> 80%層において 22~29%と最も高く、80~> 70%層では 8~14%であり、それより内層部では内側ほど低かった (第 2 図 c, d, e)。これら 5 つのタンパク質画分からなる易消化性タンパク質の存在割合は、タンパク質変異米水稻品種では 100~> 90%層で最も高く、「エルジーシー 1」では 25%、「エルジーシー活」では 34%であった (第 2 図 f)。そして、90~> 80%層では、それぞれ 21%、15%であった。一方、「ニホンマサリ」における易消化性タンパク質の存在割合は、100~> 90%層では 21%であり、90~> 80%層が 25%と最も高かった。易消化性タンパク質の存在割合は、いずれの品種でも 90~> 80%層を含む外層部で高く、品種間差も明瞭であったが、80~> 70%層やその内層部では概ね 10%以下であり、品種間差も小さかった。

難消化性タンパク質である 13 kDa プロラミンの存在割合は、いずれの品種でも 100~> 90%層では 15%であり、90~> 80%層では 28~30%と最も高かった (第 2 図 g)。

そして、80~> 70%層では 13~16%であり、それより内層部では内側ほど低かった。13 kDa プロラミンの層別の存在割合に大きな品種間差はみられなかった。

易消化性タンパク質と難消化性タンパク質の総計である総タンパク質の存在割合は、100~> 90%層では 20~22%、90~> 80%層では 22~25%と高く、80~> 70%層では 12~13%、それより内層部では内側ほど低かった (第 2 図 h)。各層の存在割合に明瞭な品種間差はみられなかった。

考 察

一般食用水稻品種の種子貯蔵タンパク質は、米粒の外層部により多く分布することが古くから報告されている (木戸・梁取 1965, 松本・岡崎 1971, 長戸ら 1972, 松本ら 1977)。本研究においても、一般食用水稻品種である「ニホンマサリ」の総タンパク質含有量は、その 45%が 100~> 80%層に存在し、タンパク質変異米水稻品種「エルジーシー 1」, 「LGC ソフト」および「エルジーシー活」においても、同様の割合で存在していた (第 2 図 h)。

易消化性タンパク質も、その 44~48%が 100~> 80%層に存在した。しかしながら、「ニホンマサリ」の易消化性タンパク質は 90~> 80%層に最も多く存在したのに対して、タンパク質変異米水稻品種の易消化性タンパク質は 100~> 90%層に最も多く存在した。そして、この傾向は、低グルテリン米水稻品種「エルジーシー 1」や「LGC ソフト」よりも低グルテリン・26 kDa グロブリン欠失米水稻品種「エルジーシー活」で顕著であった (第 2 図 f)。「ニホンマサリ」では、37~39 kDa グルテリン α と 22~23 kDa グルテリン β は、玄米中の主要な易消化性タンパク質であり、これらのタンパク質画分の含有量は易消化性タンパク質含有量の 70%を占め (第 2 表)、なおかつ 90~> 80%層に最も多く存在していた (第 2 図 c, e)。これに対して、タンパク質変異米水稻品種では、易消化性タンパク質含有量に占める 37~39 kDa グルテリン α 含有量と 22~23 kDa グルテリン β 含有量の割合が「ニホンマサリ」より低く、相対的に 57 kDa 超過タンパク質含有量や 57 kDa タンパク質含有量の割合が高かった (第 2 表)。そして、この傾向は「エルジーシー活」で顕著であり、57 kDa 超過タンパク質含有量と 57 kDa タンパク質含有量の合計は易消化性タンパク質含有量の 66%を占め (第 2 表)、両タンパク質画分は 100~> 90%層に最も多く存在していた (第 2 図 a, b)。これらのことから、「ニホンマサリ」の易消化性タンパク質が 90~> 80%層に最も多く分布したのは、37~39 kDa グルテリン α や 22~23 kDa グルテリン β の分布特性を反映したためであり、タンパク質変異米水稻品種の易消化性タンパク質が 100~> 90%層に多く分布したのは、57 kDa 超過タンパク質や 57 kDa タンパク質の分布特性を反映したことによると推察された。

37~39 kDa グルテリン α と 22~23 kDa グルテリン β は、

57 kDa 前駆体タンパク質がPB-IIに輸送された後に開裂して形成される(Yamagataら1982, Sarkerら1986)ので、米粒内における37-39 kDa グルテリン α と22-23 kDa グルテリン β の分布は類似すると推測される。しかしながら、「エルジーシー活」における37-39 kDa グルテリン α と22-23 kDa グルテリン β の分布は異なっていた。供試したタンパク質変異米水稻品種は、いずれも低グルテリン遺伝子*Lgc1*を持つが、37-39 kDa グルテリン α 含有量と22-23 kDa グルテリン β 含有量は、「エルジーシー活」の方が「エルジーシー1」や「LGCソフト」よりも明らかに少なかった(第2表)。PB-IIには、37-39 kDa グルテリン α と22-23 kDa グルテリン β に加えて26 kDa グロブリンも蓄積される(増村・田中2007)ことを考え合わせると、「エルジーシー活」の26 kDa グロブリン欠失遺伝子*glb1*が、37-39 kDa グルテリン α と22-23 kDa グルテリン β の生成、蓄積過程に何らかの影響を及ぼした可能性もある。

タンパク質変異米水稻品種は、一般食用水稻品種と比較して総タンパク質含有量に占める難消化性タンパク質含有量、特に13 kDa プロラミン含有量の割合が高いことが知られており(西村2002, 上原ら2002, 飯田ら2004, Nishimuraら2005)、本研究でも同様の結果が得られた(第2表)。また、13 kDa プロラミン含有量は、米粒内のいずれの層においても「エルジーシー活」が最も多く、「エルジーシー1」と「LGCソフト」がそれに続き、「ニホンマサリ」は最も少ないことが明らかになった。タンパク質変異米水稻品種の米粒内におけるプロラミンの分布に関して、定量的な検討はこれまで全くなされていなかったが、Furukawaら(2003)は、米の縦断面上で抗体を用いて蛍光標識した13 kDa プロラミンの分布を観察している。そして、「エルジーシー1」や低グルテリン米系統の13 kDa プロラミンは、一般食用水稻品種や酒造好適米水稻品種と同様に玄米の外層部に多く存在したが、70%搗精した白米にも比較的多く存在したと報告している。さらに、Furukawaら(2007)は、70%搗精した白米表層の電子顕微鏡観察によっても同様の結果を得ている。本研究においても、13 kDa プロラミンは、100%層に43-46%が存在しており(第2図g)、Furukawaら(2003)の観察結果と一致した。また、70%層およびその内層部の白米の13 kDa プロラミン含有量は、タンパク質変異米水稻品種の方が「ニホンマサリ」よりも1.9-4.3倍多く、米粒内層部のプロラミン含有量がタンパク質変異米水稻品種で多いという点でもFurukawaら(2003)、Furukawaら(2007)の観察結果と一致した。ただし、第2図gに示したように、13 kDa プロラミンの存在割合は90%層で最も高く、この層よりも内層部では徐々に低くなっており、このような13 kDa プロラミンの分布特性には、タンパク質変異米水稻品種と一般食用水稻品種の差異は小さいと考えられた。

厚生労働省は、特別用途食品の一つとして「低タンパク質食品」と表示するためには、当該食品のタンパク質含有

量が、通常同種の食品におけるタンパク質含有量の50%以下であることと定めている。通常、米飯には搗精歩合90%程度の白米が用いられることから、一般食用水稻品種「ニホンマサリ」の搗精歩合90%の白米に含まれる易消化性タンパク質含有量を例として考えると、その含有量を半減するためには、「ニホンマサリ」では60%に近い搗精が必要となるが、「エルジーシー1」や「LGCソフト」では80%の搗精で十分であり、「エルジーシー活」にいたっては90%の搗精でも十分であると推測できる(第2表)。タンパク質変異米水稻品種を腎疾患患者の病態食として利用する場合、搗精歩合は易消化性タンパク質の摂取量に関わるので重要な意味を持つ。90%の搗精によって排除される易消化性タンパク質の割合を第2表に示す結果から算出すると、「ニホンマサリ」では21%となるが、タンパク質変異米水稻品種では25-34%となる。また、80%まで搗精すると、「ニホンマサリ」では46%、タンパク質変異米水稻品種では44-48%の易消化性タンパク質が排除され、両者の差はほとんどなくなる。易消化性タンパク質の層別の存在割合は、80%層を含む内層部では概ね10%以下であった(第2図f)ことも考え合わせると、タンパク質変異米水稻品種の易消化性タンパク質含有量を効率的に低減するためには、80%程度の搗精歩合が望ましいと考えられた。

謝辞：本研究の遂行に当たり、近畿中国四国農業研究センター米品質研究近中四サブチームの飯田修一博士に多くのご助言、ご協力をいただいた。本論文の取りまとめに当たっては、京都府立大学の増村威宏博士、高知県農業技術センターの坂田雅正博士に貴重なご助言をいただいた。栽培管理や調査に当たっては、近畿中国四国農業研究センターの後藤昭仁氏ならびに業務第1科の諸氏と旧栽培生理研究室の松浦和子氏と赤木富貴子氏に多大なご協力をいただいた。本研究は、農林水産省プロジェクト研究『新鮮でおいしい「ブランドニッポン」農産物提供のための総合研究5系』の研究課題として実施されたものである。ここに記して感謝の意を表す。

引用文献

- Furukawa, S., T. Mizuma, Y. Kiyokawa, T. Masumura, K. Tanaka and Y. Wakai 2003. Distribution of storage proteins in low-glutelin rice seed determined using a fluorescent antibody. *J. Biosci. Bioeng.* 96 : 467-473.
- Furukawa, S., M. Itou, T. Masumura, K. Tanaka, Y. Kiyokawa and Y. Wakai 2007. Ultrastructure of low-glutelin rice endosperm. *Plant Biotech.* 24 : 227-229.
- Iida, S., E. Amano and T. Nishio 1993. A rice (*Oryza sativa* L.) mutant having a low content of glutelin and a high content of prolamine. *Theor. Appl. Genet.* 87 : 374-378.
- 飯田修一・塔野岡卓司・西尾剛 1993. イネのグルテリンを減少させる突然変異遺伝子のRFLPマッピング. *育種* 43(別2) : 92.
- Iida, S., K. Miyahara and T. Nishio 1998. Rice mutant lines lacking alpha-

- globulin. *Breed. Sci.* 48 : 45–49.
- 飯田修一・春原嘉弘・前田英郎・松下景・根本博・石井卓朗・吉田泰二・中川宣興・坂井真・西尾剛 2004. 良食味低グルテリン米品種「LGCソフト」の育成. *近中四農研報* 3 : 57–74.
- 木戸三夫・梁取昭三 1965. 米粒蛋白質集積過程の組織化学的研究. *日作紀* 34 : 204–209.
- 楠田宰 1995. 水稻の収量及び収量構成要素の調査方法について. *植調* 29 : 138–143.
- 松本和・岡崎正一 1971. 米粒の組織化学的研究 (第1報). 米粒及び炊飯粒のたんぱく質, 脂質の分布について. *高知学園短期大学紀要* 2 : 35–40.
- 松本和・山本文子・岡崎正一 1977. 米粒の組織化学的研究 (第3報). 品種によるたんぱく質の分布. *高知学園短期大学紀要* 8 : 37–41.
- 望月隆弘・原茂子 2000. 保存期慢性腎不全の食事療法における低蛋白米の有用性. *日腎会誌* 42 : 24–29.
- 増村威宏・田中國介 2007. コメの品質, 食味向上のための窒素管理技術3. イネ種子タンパク質の合成・集積と米粒内分布に関する分子機構. *農及園*. 82 : 43–48.
- 長戸一雄・江幡守衛・石川雅士 1972. 米粒の蛋白質含量に関する研究. *日作紀* 41 : 472–479.
- 西村実 2002. 水稻新品種「エルジーシー1」の育成. *米麦改良* (1月号) : 38–46.
- Nishimura, M., M. Kusaba, K. Miyahara, T. Nishio, S. Iida, T. Imbe and H. Sato 2005. New rice varieties with low levels of easy-to-digest protein, 'LGC-Katsu' and 'LGC-Jun'. *Breed. Sci.* 55 : 103–105.
- 西村実・宮原研三・森田竜平 2007. 水稻の種子貯蔵タンパク質変異系統におけるタンパク質組成およびその集積過程に及ぼす施肥法の影響. *日作紀* 76 : 562–568.
- 西尾剛 1996. イネ育種マニュアル. 養賢堂, 東京. 50–53.
- Ogawa, M., T. Kumamaru, H. Satoh, N. Iwata, T. Omura, Z. Kasai and K. Tanaka 1987. Purification of protein body-I of rice seed and its polypeptide composition. *Plant Cell Physiol.* 28 : 1517–1527.
- シード・プランニング 2004. 2004年版 腎臓病食品市場の実態と将来展望. (株)シード・プランニング, 東京.
- 静川幸明・大橋善之・増村威宏・田中國介 2002. 酒造好適米および主食用米の玄米中貯蔵タンパク質顆粒 (Protein Body) を構成するプロラミン, グルテリン, グロブリンの含有量とその分布. *日作紀* 71(別1) : 224–225.
- Sarker, S.C., M. Ogawa, M. Takahashi and K. Asada 1986. The Processing of a 57-Da precursor peptide to subunits of rice glutelin. *Plant Cell Physiol.* 27 : 1579–1586.
- Tanaka, K., T. Sugimoto, M. Ogawa and Z. Kasai 1980. Isolation and characterization of two types of protein bodies in the rice endosperm. *Agric. Biol. Chem.* 44 : 1633–1639.
- 田中國介・増村威宏 1988. イネ種実におけるタンパク質の集積機構. *化学と生物* 26 : 543–550.
- Tanaka, Y., S. Hayashida and M. Hongo 1975. The relationship of the feces protein particles to rice protein bodies. *Agric. Biol. Chem.* 39 : 515–518.
- 上原泰樹・小林陽・太田久稔・清水博之・福井清美・三浦清之・大槻寛・小牧有三・笹原英樹 2002. 水稻新品種「春陽」の育成. *中央農研研報* 1 : 1–21.
- Yamagata, H., T. Sugimoto, K. Tanaka and Z. Kasai 1982. Biosynthesis of storage proteins in developing rice seeds. *Plant Physiol.* 70 : 1094–1100.

Distribution of Seed Proteins in Rice Grain of Seed-Protein Mutant Cultivars : Youichi OHDAIRA, Hiroyuki TAKEDA and Ryouji SASAKI (*Natl. Agric. Res. Cent. for Western Region, Fukuyama 721-8514, Japan*)

Abstract : The distribution of seed storage proteins in rice grain of three seed-protein mutant cultivars with low ratios of digestible protein were compared with that of the normal-type cultivar “Nihonmasari”. In seed-protein mutant cultivars and “Nihonmasari”, 44~45% of the total protein and 44~48% of the digestible protein were present in the 100->80% layers. The content of the digestible protein was highest in the 100->90% layer in seed-protein mutant cultivars, but it was highest in the 90->80% layer in “Nihonmasari”. This tendency was more pronounced in low-glutelin 26-kDa-globulin-deficient cultivar than in low glutelin cultivars. In “Nihonmasari”, the contents of 37–39 kDa glutelin α and 22–23 kDa glutelin β , which are major digestible proteins, were highest in the 90->80% layer. However, in seed-protein mutant cultivars, the contents of 57 kDa excess protein and 57 kDa protein, which occupy a high percentage of digestible protein, were highest in the 100->90% layer. Therefore, it was considered that the varietal difference in the digestible protein distribution was due to the differences in the distribution of each protein fraction. Up to 10% of digestible protein is distributed in the 80->70% layer and inner layers, which indicate that the effective milling percentage to decrease digestible protein content of rice grain is about 80%.

Key words : Digestible protein, Low glutelin content, Milling percentage, *Oryza Sativa* L, Protein distribution, Rice grain, Seed protein, Seed-protein mutant cultivar.