

## Short Report

## 新規な澱粉をもつ米の開発とその新規需要創出

## 学長重点プロジェクト(2013-2015年)の成果

藤田直子<sup>1</sup><sup>1</sup> 秋田県立大学生物資源学部生物生産科学科

通常の米とは異なる澱粉を生産する変異体米を用いた米の新規需要創出を目指して、学長重点プロジェクトにおいて学内外の研究者でコンソーシアムを形成し、多面的に研究を遂行した。本プロジェクトは、変異体米の実用化につながる応用研究とともに、澱粉生合成に関する基礎研究をも含んでいる。基礎研究では、澱粉生合成の未だ未解決の澱粉合成初期反応で新たな酵素複合体が関与することを発見し、その後の澱粉合成の増幅ステージにおいても多くの酵素が複合体を形成して超高分子の澱粉を合成していることを示唆した。また、産業利用可能な二重変異体を多数開発し、優良品種との戻し交配により農業形質が向上した系統の数年後の品種登録と実用化を目指している。変異体米の食品利用については、麺やモチ、醸造への利用可能性を示した。工業利用については、生分解性が低いポリ乳酸と混合することで、耐熱性を持ったより生分解性が高いプラスチックが開発できる可能性を示唆した。本論文では、本プロジェクトのコンソーシアムメンバーを紹介するとともに、これらの成果について述べる。

**キーワード：**変異体米、澱粉、澱粉生合成、稲作農業、新規需要創出

我が国にとって米は最重要基幹作物であり、灌漑設備は完備され、何百年と同じ土地で連作が可能である。しかし、残念ながら、主食用米の消費量は、50年前の半分以下となっており、生産調整により、休耕地が全体の約3割を占める。秋田県は、東北の他県と比べても米依存率が高く、近年の主食用米の需要低下から来る販売価格の低下が稲作農家を疲弊させている。今後は、米の新規需要を開拓し、新し

い稲作農業を考えていかねばならない。

我々の研究室では、開学以来、米の澱粉生合成メカニズムの解明を研究しており、その過程で、澱粉生合成に関与する特定の遺伝子が欠損した「変異体米」を多数開発してきた。これらの中には、通常の澱粉とは、全く異なる性質を示すものがあり、それらの実用化を目指すようになった。2013年5月に学長重点プロジェクトに採択して頂き、我々が開発し

表1 本プロジェクトの研究テーマと構成メンバー

基礎研究	
1. 澱粉生合成メカニズムの解明	クロフツ尚子(RPD特別研究員、生物資源科学部客員研究員) 中村保典(本学名誉教授)
2. 新規澱粉米の開発と分析	藤田直子、クロフツ尚子他
3. 登熟気温と澱粉構造の関係	川本朋彦(秋田県農業試験場主任研究員)、高橋竜一(同研究員) 鈴木裕尊(本学部14期卒業生)
応用研究	
4. 戻し交配による農業特性の向上と大規模栽培	保田謙太郎(生物資源科学部フィールド教育研究センター准教授) 高橋徹(秋田県総合食品研究センター主任研究員)
5. 変異体米の麺への利用	高山康樹((有)高山製麺代表取締役)
6. 変異体モチ米の物性測定と官能試験	石川匡子(生物資源科学部応用生物科学科准教授)
7. 難消化性を高める食品加工法	秋山美展(生物資源科学部応用生物科学科教授)
8. 変異体米を用いた麺の開発と利用法	伊藤俊彦(生物資源科学部応用生物科学科助教) 橋爪克己(生物資源科学部応用生物科学科教授)
9. 変異体米澱粉の生分解性プラスチックへの利用可能性	境英一(システム科学技術学部機械知能システム学科助教) 邱建輝(システム科学技術学部機械知能システム学科教授)
10. 変異体米を用いた実用化への道のり	嶋崎真仁(システム科学技術学部経営システム工学科准教授)

責任著者連絡先：藤田直子 〒010-0195 秋田市下新城中野字街道端西 241-438 公立大学法人秋田県立大学生物資源学部生物生産科学科。E-mail: naokof@akita-pu.ac.jp

た変異体米を研究するコンソーシアムを形成し、学内外の多数の研究者にご協力いただき（表 1）、2015 年度までの 3 年間に研究を行った。本論文は、その概要と成果について、報告する。

また、本プロジェクトの成果は、期間内に 24 報の論文・著書（うち、15 報が査読付き英文雑誌）として出版され、これらが引き金になり、複数の大型資金（農水省農食事業発展融合ステージ（2013-2015）、実用技術開発ステージ（2016-2018））を含む外部資金の取得につながった。

### 澱粉生合成メカニズムの解明

変異体米を使った澱粉生合成に関与する多くの酵素の機能解明は、本学開学以来 17 年の間に大幅に推進された（Fujita, 2014; Fujita, 2015; Nakamura, 2015）が、それらの酵素がいかに効率的に立体的な超高分子である澱粉を構築するのには、未解明である。我々は、イネの登熟胚乳を用いて、澱粉生合成時に複数の酵素が複合体を形成して実際に酵素活性を示し、澱粉を合成していることを、初めて示唆した（Crofts ら, 2015）。

澱粉生合成の世界で、もう一つ、大きな疑問となっているのが、澱粉生合成の初期反応である。澱粉の鎖を伸長するスターチシンターゼ (SS) は、通常、グルコースがいくつかつながったプライマーが無いと鎖を伸長させることができない。プライマー合成をホスホリラーゼが担っている可能性も示されている（Satoh ら, 2008; Nakamura ら, 2012）が、不明な点が多く残されている。生合成に関与する酵素遺伝子を大腸菌発現系で発現させ、精製した酵素を混合する実験から、SS アイソザイムのうち、SSI と枝作り酵素 (BE) を混合させると、プライマーが無くても澱粉が構成されることが明らかになった（Nakamura ら, 2014）。以上のことから、澱粉初期過程は、その後の増幅過程とは全く異なる酵素反応系が関与し、酵素複合体が関与している可能性を強く示唆した。

### 新規澱粉米の開発と分析

変異体同士を交配により掛け合わせることで、多

数の二重変異体を開発し、その性質を調べた。この中には、種子の稔実率や種子重が大幅に低下する物もあったが、ユニークな澱粉を蓄積しながら生育や収量の低下が比較的抑えられた実用化が可能な系統も多数存在した。代表的なものは、これまで非組換え体としては最も高いアミロース含量を示した *ss3a/be2b*（Asai ら, 2014）、難消化性澱粉含量が非常に高い *ss1<sup>L</sup>/be2b*（Abe ら, 2014）、球形澱粉を蓄積する *ss3a/ss4b*（Toyosawa ら, 2016）である。いずれも育種を進めた後に品種登録し、実用化を目指している。

### 登熟気温と澱粉構造の関係

米澱粉の構造は、収穫年度によって若干変わることは以前から知られていた。これは、澱粉生合成関連酵素のうち、いくつかは、温度感受性があり、高温登熟するとその活性が低下するからである。温度感受性を示す酵素として代表的なものは、BEIIb（高橋ら, 2013）と GBSSI（澱粉粒結合型 SSI; Hirano と Sano, 1998）である。これらの酵素は、それぞれアミロペクチン構造およびアミロース含量を左右することから、異なる温度の人工気象器内で登熟させたイネ種子の澱粉構造を分析した。いずれの品種も高温登熟させた種子の澱粉はアミロース含量が低く、アミロペクチンの短鎖が減少していた（鈴木, 2016）。一方、品種によって登熟温度による澱粉の構造変化の程度は一定ではなかったことから、品種によって感受性の強弱があることも示唆された。さらに研究を深めることで、澱粉構造が地球温暖化等の環境的影響を受けにくい品種の開発などに生かすことができる。

### 戻し交配による農業特性の向上と大規模栽培

我々が開発した変異体は、澱粉生合成に重要な酵素である場合、種子に蓄積する澱粉量や米の収量が低下する等の農業形質の低下が生じる。従って変異体米を実用化する場合、育種が必須である。我々は、秋田県の優良品種である‘あきたこまち’や‘秋田 63 号’を戻し交配することで、農業特性の向上を試

みた。超多収品種である'秋田 63 号'を 2 回戻し交配した系統で種子重が増加したにもかかわらず、澱粉の性質が維持されていたことは既に報告した (藤田ら, 2014)。

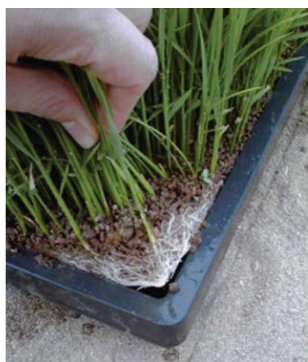


図1 2015年に作成したBC<sub>2</sub>F<sub>4</sub>の苗。機械植えをする際、根の張りが重要である。このくらい張っていれば、可能と判断した。

さらに、これまでは、苗立率が芳しくない変異体は、田植えは手植えで行っていたが、実用化を目指す場合、一般農家が通常品種と同様に栽培可能でなければならない。図1に示すように、秋田 63 号と 2 回戻し交配を行った系統の苗は、根の張りも十分であったため、田植え機による田植えが可能となった。現在、3 回戻し交配した系統の品種登録申請を目指している。

### 変異体米の麺への利用

我々が開発した変異体米の中で、最も期待している系統が難消化性澱粉 (RS) を多量に種子に貯める高 RS 米系統である。通常の澱粉が完全にブドウ糖にまで分解されて小腸で吸収されるのに対し、RS は、消化酵素では消化されにくく、高分子のまま小腸を通過し、大腸に到達する澱粉のことである。従って、低カロリーであり、食物繊維と同様、大腸環境を良くする機能を持つ。通常の米には、RS は、1% 程度しか含まれないが、我々が開発した変異体米には、RS が 20-30% も含まれるものが存在した (Tsuiki ら, 2016)。これらは、まさにダイエット米となり得るが、炊飯米として食べた場合、その独特の澱粉の構造から、極度に澱粉が老化 (パサパサになる) し、食味がすぐれない欠点があった。ダイエット米の実用化には、食味の改善と調理法の工夫が不可欠である。一方、麺は、茹でた後、冷水等でしめることでむしろ澱粉の老化性を促進させた方が、コシが強くなり美味となる。実際、コムギ粉の 10% を変異体米粉に置き換えた麺を試作したところ、コムギ 100% の麺よりつるつる感とコシがあり、大変美味であった。麺の物性測定も官能試験の結果を裏付けていた。

今後、低カロリー性や機能性を向上させるためにさらに配合割合を高めて試作する予定である。

### 変異体モチ米の食品利用

我々が保有する変異体の中には、モチ系統も存在する。モチ米は、アミロペクチン 100% の澱粉からなるが、モチを作成した後の固まりやすさ (硬化性) 等は品種等によって異なることは、昔から知られていたが、それらの原因は不明であり、数値評価する方法に関する知見は限られている。我々は小型卓上試験機に特注のアタッチメントを装備することで、官能試験によって得られるモチの伸び、歯ごたえ、硬さを数値化する方法を確立した。今後、変異体モチの澱粉構造と物性を詳細に調べ、硬化性との関連について調べていく予定である。

### 難消化性を高める食品加工法

澱粉性の食品に油脂を加えて加熱したり、湿熱処理することで難消化性が高められることが知られている。食品の難消化性は、摂取後の血糖値を測定することで評価される (グリセミック指数, GI) が、これには、多大な手間がかかるため、Goñi ら (1997) の方法を用いた消化酵素を用いた澱粉消化性から推測した推定 GI (EGI) で評価した。大豆油を添加して 160°C で処理した区では、未処理区より EGI 値が低くなった (小原ら, 2013)。また、アミロース含量の異なる変異体米澱粉の EGI 値を測定したところ、アミロース含量が高いほど EGI 値は低いことが明らかになった。

### 変異体米を用いた麺の開発と利用法

清酒の主原料は、米、麴、水であるが、酵母によるアルコール発酵の原料となる糖は、米の澱粉を麴が分解することで供給される。RS を多量に含む変異体米を麴米に用いると、通常の酒米を用いた場合より、澱粉やタンパク質の分解活性が強い酵素が発現されることが分かってきた (野口, 2015)。この麴を用いた酒粕をさらに分解することで得られる新たな

調味料の開発は、酒粕の有効利用につながる。また、近年の地球温暖化によって、米澱粉の構造が変化し、通常の麴では分解しにくい酒米となることが多いが、上記の麴を用いることで、高温登熟した酒米も効率よく消化可能な麴の開発が可能となる。

### 変異体米澱粉の生分解性プラスチックへの利用可能性

近年の地球温暖化問題から、石油由来の樹脂からバイオマス由来の生分解性プラスチックへの移行が積極的に行われている。現在、生分解性プラスチックとして多く用いられているのは、ポリ乳酸 (PLA) であるが、これは、生分解性と耐性温度等に課題がある。そこで、変異体を含む米粉あるいは米澱粉を添加することでこれらの課題が解決できるかどうか、試みた。澱粉を 10~30% の割合で PLA と混合して強度を測定したところ、高 RS 変異体米澱粉では、20% まで十分な強度を維持していた。また、熱可塑性澱粉として PLA と混合させた場合、PLA のみの場合より高温環境下でも荷重指示能を比較的維持できる耐熱性を有していることが分かった。米澱粉や米粉を PLA に添加することでさらに生分解性プラスチックの利用可能性が拡大することを示唆した。

#### 10. 変異体米を用いた実用化への道のり

我々が開発した変異体米が将来、普及するためには、川上の生産者から川下の消費者までをつなぐ必要がある。そのためには、変異体米を加工し、商品にする役割を担う企業との共同研究が第一歩である。本事業の期間中、食品、工業分野を問わず、企業検索を行い、県内外の十数社の企業との共同研究が進行している。中でも、米粉麴を試作頂いた (有) 高山製麴を中心としたコンソーシアムは、秋田厚生連由利組合総合病院糖尿病代謝内科医師である谷合久憲氏、秋田県総合食品研究センターの高橋徹氏、本学システム科学技術学部の嶋崎真仁准教授を加えて、数回の打ち合わせを行った。その中で、ダイエット米として期待している高 RS 米を用いて、NPO 法人由利本荘にかほ市民が健康を守る会で料理開発も一

部行った。これらのコンソーシアムでは、麴を中心とした高 RS 米の実用化をめざして、外部資金の取得に励んでいる。さらに、山形大学理工学研究科の西岡昭博教授と (株) 秋田プリマ食品との 3 者の共同研究により、変異体米のハム等の加工食品への添加について、検討している。このような、商品開発、実用化を目指した共同研究を深め、変異体米の二次加工と消費者への販売ルートを確立することで、生産者が安心して変異体米を生産できる環境が整うことになる。今後は、農家への啓発活動、上記共同研究の推進等に力を入れ、品種登録後すぐに実用化することを目標としたい。

### 謝辞

本研究は、参画いただいた共同研究者はじめ、本学生物資源科学部植物生理研究室の卒業生、在学生および研究員の方々の多大なご努力による成果である。ここに御礼申し上げます。

### 文献

- Abe, N., Asai, H., Yago, H., Oitome, FN., Itoh, R., Crofts, N., Nakamura, Y. & Fujita, N. (2014). Relationships between starch synthase I and branching enzyme isozymes determined using double mutant rice lines. *BMC Plant Biology* 14, 80.
- Asai, H., Abe, N., Matsushima, R., Crofts, N., Oitome, NF., Nakamura, Y. & Fujita, N. (2014). Deficiencies in both starch synthase (SS) IIIa and branching enzyme IIb lead to a significant increase in amylose in SSIIa inactive japonica rice seeds. *Journal of Experimental Botany* 65, 5497-5507.
- Crofts, N., Abe, N., Oitome, NF., Matsushima, R., Tetlow, IR., Emes, MJ., Nakamura, Y. & Fujita, N. (2015). Amylopectin biosynthetic enzymes from rice developing seed form enzymatically active protein complexes. *Journal of Experimental Botany*. 66, 4469-4482.
- Fujita, N. (2014). Starch biosynthesis in rice endosperm. *Agri-Bioscience Monographs* 4, 1-18.

- Fujita, N. (2015) Manipulation of rice starch properties for application. In: Nakamura Y. (Ed.) *Starch: Metabolism and Structure*. (pp. 335-369). Springer.
- 藤田直子, 立木芳, 追留那緒子, 阿部美里, クロフツ尚子, 川本朋彦, 小玉郁子, 加藤和直, 佐藤健介, 高橋竜一, 伏見力 (2014). 「新規澱粉米品種の育成に向けて～BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> 種子および BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 植物の解析～」『秋田県立大学ウェブジャーナル B』 1: 7-11
- Goñi, I., Garcia-Alonso A., Saura-Calixto, F. (1997) A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research* 17, 427-737.
- Hirano, HY. & Sato, Y. (1998). Enhancement of Wx Gene Expression and the Accumulation of Amylose in Response to Cool Temperatures during Seed Development in Rice. *Plant and Cell Physiology* 39, 807-812.
- Nakamura, Y. (2015) Initiation Process of Starch Biosynthesis. In: Nakamura Y. (Ed.) *Starch: Metabolism and Structure*. (pp. 315-332). Springer.
- Nakamura, Y., Ono, M., Utsumi, C. & Martin, S. (2012). Functional interaction between plastidial starch phosphorylase and starch branching enzymes from rice during the synthesis of branched maltodextrins. *Plant and Cell Physiology*. 53, 869-878.
- Nakamura, Y., Aihara, S., Crofts, N., Sawada, T. & Fujita, N. (2014). *In vitro* studies of enzymatic properties of starch synthases and interactions between starch synthase I and starch branching enzymes from rice. *Plant Science*. 224, 1-8.
- 野口拓実 (2015). 「高アミロース難消化米の醸造環境下における消化について」『秋田県立大学大学院生物資源科学研究科修士論文』
- 小原幸, 松橋南, 納谷美日子, 藤田直子, 小玉郁子, 川本朋彦, 秋山美展 (2013). 日本食品科学工学会東北支部会.
- Satoh, H., Shibahara, K., Tokunaga, T., Nishi, A., Tasaki, M., Hwang, S-K., Okita, TW., Kaneko, N., Fujita, N., Yoshida, M., Hosaka, Y., Sato, A., Utsumi, Y., Ohdan, T. & Nakamura, Y. (2008). Plastidic  $\alpha$ -glucan phosphorylase mutation dramatically affects the synthesis and structure of starch in rice endosperm. *The Plant Cell* 20, 1833-1849.
- 鈴木裕尊 (2016). 「異なる登熟温度における枝作り酵素 BEIIb 及びアミロース合成酵素 GBSSI と米澱粉構造の関係」『秋田県立大学生物資源科学部卒業論文』.
- 高橋仁, 佐藤智美, 高橋徹, 澤田隆行, 藤田直子, 田口隆信, 中村保典 (2013) 「生産年の異なる酒造好適米「秋田酒こまち」白米デンプン特性の解析」『日本醸造協会誌』 108, 675-685.
- Toyosawa, Y., Kawagoe, Y., Matsushima, R., Crofts, N., Ogawa, M., Fukuda, M., Kumamaru, T., Okazaki, Y., Kusano, M., Saito, K., Toyooka, K., Sato, M., Ai, Y., Jane, J-L., Nakamura, Y. & Fujita, N. (2016). Deficiency of starch synthase IIIa and IVb alters starch granule morphology from polyhedral to spherical in rice endosperm. *Plant Physiology* 170, 1255-1270.
- Tsuiki, K., Fujisawa, H., Itoh, A., Sato, M. & Fujita, N. (2016). Alterations of Starch Structure Lead to Increased Resistant Starch of Steamed Rice: Identification of High Resistant Starch Rice Lines. *Journal of Cereal Science* 68, 88-92.

〔平成 28 年 7 月 20 日受付〕  
〔平成 28 年 7 月 31 日受理〕

## **Development and application of novel rice cultivars with unique starches** Outcome of the Research Project (2013–2015) Fund of the APU President

---

Naoko Fujita

*Department of Biological Production, Faculty of Bioresource Sciences, Akita Prefectural University*

To generate new demand for the use of rice mutant lines with unique starches, we formed a consortium with researchers within and outside of our university via the Research Project Fund of the APU President for conducting various researches. This project included fundamental research on the mechanisms of starch biosynthesis and applied research on the use of mutant rice lines. Through the fundamental research, we found that novel enzyme complexes were involved in the initiation stage and amplification stages of starch biosynthesis and that these complexes ultimately form large starch molecules. Many rice mutant lines that accumulate uniquely structured starch in their endosperm were developed. These mutant lines were back crossed with elite cultivars to produce new cultivars. An assessment of the food applications of these rice mutant lines highlighted their industrial use in noodles, rice cakes, and fermented food production. We also attempted to produce harder and more heat-resistant bio-degradable plastics using mixtures of rice powder and polylactic acid. In this report, consortium researchers have been introduced and the outcomes of the project have been discussed.

**Keywords:** Mutant rice lines, Starch, Starch biosynthesis, Rice agriculture, Generation of novel demand