

氏名	藤田 由美子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第 4280 号
学位授与の日付	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第 5 条第 1 項該当)
学位論文の題目	コムギ品種および加工食品における DNA 品種識別技術の開発
論文審査委員	教授 田原 誠 教授 加藤 謙司 准教授 稲垣 善茂

### 学位論文内容の要旨

本研究は、国産コムギから作られためんやパン、菓子類について、原材料品種や産地に関する表示の信頼性を確保するため、加工食品のコムギ品種識別技術を開発することを目的とした。まず初めに、コムギ加工食品から抽出した DNA の状態の確認と DNA マーカーの適用可能性を明らかにした。既存の DNA 抽出法を用いて、うどんやパン、クッキー等のコムギ加工食品から DNA を抽出することが可能であった。製粉された小麦粉では DNA の断片化はほとんど確認されなかったが、パイ等の高温で加熱された食品ほど DNA は著しく断片化していることを確認した。DNA の断片化の程度に応じて PCR による増幅産物長をより短く設定することが必要であり、様々なコムギ加工食品において一般的に適用できる DNA マーカーの増幅産物長は、300bp 程度であると推測された。

次に、SSR マーカーを用いて国内市場に流通する主要品種を網羅した品種識別技術を開発した。増幅産物長を 300bp 程度に設定し、イネやオオムギ等の DNA は検出しないコムギ特異性の高い 10 組の EST-SSR マーカーを開発した。これらを用いて、コムギ 58 品種（国内 41、国外 17）に関する遺伝子型カタログを作成したところ、国内外品種を識別することができ、「ホクシン」や「農林 61 号」等の主要国内品種を識別可能となった。また、品種名等の表示がある市販の加工食品において、EST-SSR マーカーによる品種識別が可能であることを確認した。

一方、国内 15 品種について 26 府県の原種・原原種を用い、EST-SSR マーカーによる品種内多型の有無を調査したが、これらの遺伝子座の変異や分離はほとんど見られず、信頼度の高い品種識別マーカーであることが確認された。また、複数の品種で構成される輸入コムギ銘柄 5 種類について EST-SSR マーカーによる遺伝子型を調査し、各銘柄におけるパターンの特徴や、輸入年度間の遺伝子型の変動を明らかにした。EST-SSR マーカー-TaSE3 は、主要な輸入コムギ銘柄において現在の国内品種では検出されない遺伝子型を示すことを確認したため、加工食品における国産コムギと輸入コムギの簡易識別法として利用可能と考えられた。

特定の品種をより簡易・迅速に識別する DNA マーカーを開発するため、各種の遺伝子領域における SNP 探索を行ったところ、6 種類の遺伝子領域から、8 品種間において合計 169bp の SNP を見出した。これらの SNP をマーカー化し、国内市場に流通する主要品種間においてパン用品種「ニシノカオリ」「春よ恋」「ハルユタカ」を、簡易・迅速に識別できる技術を開発した。また、めん用品種「さぬきの夢 2000」を主要品種と簡易迅速に識別するマーカーセットを開発した。さらに、リアルタイム PCR 法を用いて SNP を定量化し、いくつかの品種がブレンドされた小麦粉において「さぬきの夢 2000」を定量する技術を開発した。

## 論文審査結果の要旨

農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律（JAS 法）における加工食品の品質表示基準に基づき、小麦製品では原産地や品種名を使用することができるので、「さぬきの夢 2000」、「キタノカオリ」など、特色のある国産品種の商品であることを強調する表示が多く見られるようになった。このため、小麦製品の品種名表示についての信頼性を確保するため、加工食品に使われたコムギ品種を識別する技術の開発が必要であった。

本論文研究では、まず初めに、様々なコムギ加工食品から抽出した DNA の状態を確認するとともに、PCR による DNA 増幅条件を検討した。その結果、パイ等の高温で加熱された食品ほど DNA は著しく断片化しているため、コムギ加工食品において一般的に適用できる DNA の増幅産物長は、300bp 程度であると推測した。

次に、国内市場に流通する主要品種を対象に 10 組の EST-SSR マーカーを開発した。これらを用いて、コムギ 58 品種（国内 41、国外 17）の遺伝子型カタログを作成し、1) 国内外品種、2) 「ホクシン」等の主要国内品種、3) 品種名表示がある市販の加工食品の原料品種識別を可能にした。これらのマーカーでは、国内 15 品種、26 府県の原種・原原種を用いて品種内多型が検出されないことを確認し、信頼度の高い品種識別マーカーであることを示した。また、EST-SSR マーカー TaSE3 が、加工食品に使われた国産コムギと輸入コムギを簡易に識別する手段として利用できることを示した。

特定の品種について、より簡易・迅速に識別する DNA マーカーを開発するため、遺伝子領域における SNP（6 種類の遺伝子領域で 169bp の SNP）を見出し、パン用およびめん用の国内品種を簡易迅速に識別するマーカーセットを開発した。さらに、リアルタイム PCR 法を用いて SNP を定量化し、いくつかの品種がブレンドされた小麦粉において「さぬきの夢 2000」を定量する技術を開発した。

以上の様に、本研究論文は、加工食品に使われたコムギ品種を識別する技術について、基本的な条件の検討から実用的な DNA マーカーの開発まで、一貫して完成させたものとして高く評価できるものであり、博士論文研究に十分値するものと判定した。