テクニカルニュース No.42

Technical News No.42 放射線育種場,Institute of Radiation Breeding 平成4年10月, October, 1992

イネの低アレルゲン系統の選抜

Selection of rice mutants having a low content of 16kDa allergenic protein

米を食べることによってアレルギーが発症す る患者が近年増加している。アレルギー発症の 原因となるアレルゲンは、米の塩可溶性タンパ ク質であることが明らかにされ、その後分子量 16,000の塩可溶性タンパク質(16KDaアレルゲン タンパク質)であることが示された。

放射線育種場で形態変異について選抜された 約1500の突然変異体保存系統の胚乳タンパク質 を, SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法 で分析したところ,分子量が約16,000のタンパ ク質がかなり減少した突然変異体が2系統(85 KG-4及び86RG-18) 見いだされた。85KG-4 はコシヒカリを、86RG-18はレイメイの淡緑葉 突然変異系統をそれぞれγ線種子照射して得た 突然変異体で,いずれも胚乳が粉質の突然変異 体として選抜されたものである。これらは、分 子量16,000のタンパク質をそれらの原品種であ るコシヒカリやレイメイの半分程度しか含まな い。アレルゲンタンパク質に対するポリクロー ナル抗体及びモノクローナル抗体を使った実験 により、これらの系統において減少したタンパ ク質は16kDa アレルゲンタンパク質であること が証明された。

いずれの系統も原品種とのF₂において、原

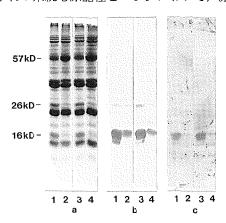
低アレルゲン型であったことから低アレルゲン 型は単因子の劣性遺伝子に支配されていると考 えられた。胚乳の粉質形質は不安定で, 85kG-4や86RG-18の中にも透明粒がみられ、それぞ れの原品種とのF〟においても4分の1よりも 低い比率で分離した。低アレルゲン型で透明粒 の系統は得られておらず、粉質と低アレルゲン 型が、変異した1遺伝子の多面発現あるいは強 く連鎖した2つの遺伝子によると示唆された。 85KG-4は他の農業形質や炊飯米の品質が原 品種コシヒカリと大差なく,低アレルゲン米と しての利用の可能性がある。本系統がそのまま

品種型と低アレルゲン型が3:1の比で分離し,

F。の低アレルゲン型個体の自殖次代はすべて

低アレルゲン米として利用できるかどうかは医 療機関による検討を要するが、簡易な調製によ るアレルゲン低減化処理の材料として優れてい ることが明らかとなった。すなわち精白米を界 面活性剤を含む塩水にひたして減圧処理した後, 流水で洗浄するだけで、酵素処理によるアレル ゲン低減化米と同程度までに16kDa アレルゲン タンパク質を減らすことができた。

(西尾 剛,飯田修一)



第1図 イネ突然変異体の種子タンパク質の電気泳動分析

a:クマジーブルーによる全タンパク質の検出

b: ウサギポリクローナル抗体によるアレルゲンタンパク質の検出

c:マウスモノクローナル抗体によるアレルゲンタンパク質の検出

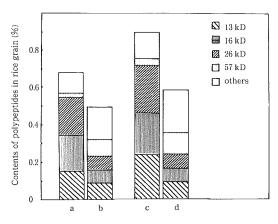
1,3:コシヒカリ,2:85KG-4,4:86RG-18

Fig. 1. Electrophoretic analysis of seed proteins of rice mutants.
a: total proteins stained by Coomassie Brilliant Blue R-250
b: detection of allergenic protein using rabbit polyclonal antibody c: detection of allergenic protein using mouse monoclonal antibody 1, 3: Koshihikari, 2:85KG-4, 4:86RG-18



第2図 コシヒカリ(左)と85KG-4(右) の精白米

Polished rice grains of Koshi-hikari(left) and 85KG-4 (right) Fig. 2.



第3図 精白米における塩可溶性タンパク質の含量

a:コシヒカリ, b:85KG-4 c:レイメイ, d:86RG-18

Fig. 3. Contents of salt-soluble proteins in

polished rice grains.

a : Koshihikari, b : 85KG-4 c : Reimei, d : 86RG-18

第1表 低アレルゲン系統の収量構成要素

Table 1. Components of yield in low allergen lines

	特 性 Characters	コシヒカリ Koshihikari	85KG — 4 85KG — 4	レイメイ Reimei	86RC-18 86RC-18
Α	1株当たり穂数				
Α	Number of panicles in a plant	12, 0	11. 3	8. 1	8. 5
В	1 穂当たり穎花数				
В	Number of flowers in a panicle	124.6	123, 5	102. 7	87. 8
С	l 穂当たり稔実種子	·数			
Ċ	Number of fertile	109.8	113. 2	94. 9	67, 5*
D	seeds in a panicle 種子稔性(%)				
Ď	Seed fertility(%)	88, 1	91.7	92, 6	74.5**
	C/B	00. 1	0., 1	52, 0	
E	1000粒 重(g)				
Е	Weight of 1000 grains(g)	18. 9	19. 3	22, 3	15. 8**
F	良質粒率				
F	Percent of grains	96, 3	96. 4	94. 3	78.9**
G	of good quality 1株当たり収量(g)				
G	Estimated yield	24. 0	23, 8	16. 2	7. 2**
u	per plant(g)	24. 0	20, 0	10. 4	1. 2
	$A \times C \times E \times F/100,000$				

- ‡: 突然変異系統とその原品種との t 検定で 5 %レベルで有意
- #: Significant at 5% level in t test between a mutant line and the original cultivar.
- **: t 検定で 1 % レベルで有意
- **: Significant at 1% level in t test.

Selection of rice mutants having a low content of 16kDa allergenic protein

The number of people suffering atopic dermatitis due to the intake of rice has increased recently. Allergens, agents causing allergic reaction, were considered to be present in the salt-soluble fraction of rice seed protein, and then the major allergenic protein was found to be a salt-soluble protein having a molecular weight of 16,000 Daltons (16kDa allergenic protein).

Two mutant lines, 85KG-4 and 86RG-18, were found to have a low 16kDa protein content in the SDS polyacrylamide gel electrophoresis of seed proteins using about 1,500 mutant lines previousl selected for morphological characters. 85 KG-4 and 86 RG-18 were obtained by gamma-ray irradiation of seeds of cv. Koshihikari and of a pale green mutant of cv. Reimei, respectively, and both were selected as mutants having floury endosperm. The 16kDa protein content of these mutants were about half that of their original cultivars. Immunoblot analysis using polyclonal and monoclonal antibodies to the 16kDa allergenic protein demonstrated that the decreased protein in these mutants was the 16kDa allergenic protein.

In the F_2 populations between these mutants and their original cultivars, original type and low-allergen type segregated in a ratio of 3 to 1. All the self-pollinated progenies of F_2 plants of low-allergen type had a low content of 16kDa allergenic protein, indicating that the low-allergen type is controlled by a single recessive gene. Floury character of endosperm in these mutants appeared to be unstable.

Normal grains were present in both 85 KG-4 and 86 RG-18, and floury grains appeared in less than one-forth of the seeds of F_2 populations. Trials for genetic separation of the genes of low-allergen type and floury endosperm by crossing with the original cultivars have been unsuccessful, suggesting tight linkage of these two genes or pleiotropism of a single mutated gene.

Since other agronomic characters and cooking quality of 85KG-4 were almost the same as those of the original cultivar, Koshihikari, this line is promising as a low allergen rice. Although it still remains to be examined whether this line can be used directly as a low allergen rice, it was found to be valuable as a material for preparing hypoallergenic rice. Soaking of polished rice of 85KG-4 in salt solution containing detergent under reduced pressure and washing with running water decreased 16kDa allergenic protein to the level of the commercial hypoallergenic rice produced from Koshihikari by enzyme treatment.

(Takeshi NISHIO and Shuichi IIDA)

〒319-22 茨城県那珂郡大宮町 私書箱 3 号農林水産省農業生物資源研究所放射線育種場 Institute of Radiation Breeding, NIAR, MAFF P.O. Box 3, Ohmiya-machi, Ibaraki, 319-22 JAPAN