氏名 張 文 勝

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2732号

学位授与の日付 平成16年 3月25日

学位授与の要件 自然科学研究科資源管理科学専攻

(学位規則第4条第1項該当)

学位論文の題目 Studies of β amylase variation in barley

(オオムギにおける<math>β・アミラーゼ変異の研究)

論文審查委員 教授 武田 和義 教授 野田 和彦 助教授 佐藤 和広

学位論文内容の要旨

In this thesis the polymorphisms of β -amylase, one of the most important enzymes for malting barley, were analyzed using large number of barley accessions.

Firstly, polymorphisms of β -amylase were investigated by analyzing the thermostability and IEF patterns in 8,270 accessions of cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.) from different regions of the world. The β -amylase types were grouped into three main types (A, high; B, medium; C, low), and two additional rare mutants by thermostability assay. While three major IEF patterns (I, Ia, and II) and four rare patterns were identified by IEF analysis. By combined analysis of the thermostability types and IEF patterns, a total of 14 β -amylase phenotypes were classified. A clear geographical differentiation of β -amylase phenotypes was confirmed

Secondly, polymorphisms of β -amylase thermostability and IEF pattern among 19 species (27 taxa, 337 accessions) of wild barley were studied. Wide genetic variation was found. In general, the thermostability types and IEF patterns of *H. vulgare* ssp. *spontaneum* were rather similar with that of cultivated barley, and markedly different from those of other wild species.

Thirdly, CAPS analysis of *Bmy1* alleles in 609 barley accessions, included 516 accessions of *H. vulgare* ssp. *vulgare*, 78 accessions of *H. vulgare* ssp. *spontaneum* and 15 accessions of *H. vulgare* ssp. *agriocrithon* were performed and 13 CAPS types were identified. A cluster analysis based on thermostability type, IEF pattern and CAPS type revealed four major groups.

Fourthly, a total of 13 accessions of cultivated barely which representing 12 kind of newly reported Bmy1 alleles were selected for genomic DNA sequence analysis. These different Bmy1 alleles could be classified into Haruna Nijo-like, Schooner-like and Harrington-like groups. In conclusion, by analyzing the genomic DNA sequences of typical Bmy1 alleles screened from worldwide barley germplasm, a better understanding of β -amylase IEF pattern and thermostability type was obtained, and phylogenetic relationship of worldwide barley accessions was reflected from one aspect.

論文審査結果の要旨

本論文はビール醸造の最も重要な酵素である β -アミラーゼの分子遺伝学的多様性に関する研究を取りまとめたものである。

第1章第1節では世界のオオムギ8,270品種を β -アミラーゼの熱安定性と等電点電気泳動 (IEF)像によって分類し、両者の組合せによって14種類のタイプを見出し、これらが明らかな地理的分布を示すことを明らかにした。従来は少数の品種を調査して $3\sim4$ タイプしか報告されておらず、本研究によって初めて栽培オオムギの β -アミラーゼ多型の全貌が明らかになった。第2節では野生オオムギ19種337系統を第1節と同様に解析し、栽培オオムギの祖先種とされるスポンタニウムの β -アミラーゼは栽培オオムギと酷似している一方、それ以外の野生種の β -アミラーゼは全く異なるタイプを示すことを明らかにし、 β -アミラーゼ遺伝子の系統進化に新たな知見を加えた。

第2章では栽培オオムギ516系統と野生オオムギのスポンタニウム78系統、ならびにアグリオクリトン15系統計609系統を用いて β -アミラーゼ遺伝子のCAPS分析を行い、13タイプに分かれることを明らかにした。また、これらのデータに基づいてクラスター分析を行い、栽培オオムギの β -アミラーゼの起源が多元的であることを明らかにした。

第3章では代表的な13タイプの β -アミラーゼのゲノムDNAの塩基配列を解読し、アミノ酸構成を推定した。熱安定性および電気泳動像の変化と塩基配列の関係を解析し、オオムギにおける分子育種に関する基礎的な知見を構築した。このように本論文は博士(農学)の学位にふさわしいと判断される。