

氏名	アリ マスウディ ネジャド Ali Masoudi Nejad
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	農博第1315号
学位授与の日付	平成15年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科応用生物科学専攻
学位論文題目	MOLECULAR GENETICS AND GENOMICS STUDIES USING GAMETOCIDAL CHROMOSOMES (配偶子致死染色体を用いた分子遺伝学及びゲノム研究)
論文調査委員	(主査) 教授 遠藤 隆 教授 大西 近江 教授 谷坂 隆俊

### 論文内容の要旨

パンコムギ (*Triticum aestivum*,  $2n=6x=42$ ) には、染色体切断を起こして染色体構造変異を高頻度に誘発する遺伝的ゲノム再編成システムがある。この染色体切断は配偶子致死 (*Gc*: gametocidal) 染色体と呼ばれる近縁野生種由来の染色体に座乗する遺伝子によって生じる。*Gc* 染色体がパンコムギに導入されると、配偶子形成の過程で、*Gc* 染色体を含まない配偶子にのみ染色体切断が起る。パンコムギは六倍体であるので、染色体の欠失、重複、転座などの構造変異や遺伝子量の変動に対する寛容度が高く、*Gc* 染色体によって誘発された染色体はそれ以後の世代に安定して伝達することが明らかになっている。

本研究では、まず、この *Gc* 染色体を利用してコムギ近縁のライムギ又はオオムギ染色体の断片化をパンコムギにおいて誘発し、パンコムギの異種染色体断片系統を育成した。そして、これらの系統とパンコムギの欠失系統を用いて、ライムギやオオムギ染色体の地図作製とパンコムギのグリアジン遺伝子のクローニングと座乗染色体領域の決定を行った。

第一の研究では、ライムギの 1R 染色体の染色体断片パンコムギ系統を多数育成し、その中から 1R 染色体の附随体の一部がパンコムギ染色体に転座している 5 系統を選抜した。1R 染色体の附随体にはコムギのさび病に対する抵抗性遺伝子 (*Lr26*, *Sr31*, *Yr9*) と種子貯蔵タンパク質セカリンの遺伝子 (*Sec-1*) が座乗している。この 5 系統について 3 種類のさび病の接種試験とセカリンのタンパク質及び遺伝子座の有無を A-PAGE (acid polyacrylamide gel electrophoresis) と PCR (polymerase chain reaction) により検定した。5 系統中 2 系統はさび病抵抗性遺伝子を保有していたがセカリン遺伝子を失っており、2 系統はさび病とセカリン両遺伝子を保有し、1 系統はさび病とセカリンのどちらの遺伝子も失っていた。この結果、これらの遺伝子の 1R 染色体附随体上での配列は、Nor-*Sec-1*-*Lr26/Sr31/Yr9*-Telomere であることが明らかになった。1R 染色体は世界の多くのパンコムギに導入されているが、セカリンが小麦粉の品質に悪影響があるため、その除去がパンコムギの育種目標になっている。本研究では、さび病抵抗性遺伝子を保有しているがセカリン遺伝子を失っている 2 系統が得られた。

第二の研究では、オオムギ 7H 染色体の染色体断片を保有するパンコムギの 93 系統を用いて、SSR (simple sequence repeat), AFLP (amplified fragment length polymorphism) という分子マーカーの物理的な染色体地図作製を行った。この地図作製においては、近年ヒトの染色体地図作製において行われるようになってきた Radiation hybrid mapping の手法を用いた。本研究の結果は、マーカーの配列が従来の乗り換え率に基づく連鎖地図の結果と一致することを示し、この染色体地図作製法がコムギのオオムギ染色体断片系統でも非常に有効であることを証明した。そこで、*Gc* 染色体によって誘発された異種染色体断片系統を用いる物理的染色体地図作製の方法を、GC-mapping (gametocidal chromosome mapping) と命名した。

第三の研究では、パンコムギの  $\omega$ -グリアジン遺伝子の単離、DNA 塩基配列の解読及び座位染色体領域の決定を行った。得られた  $\omega$ -グリアジン遺伝子の配列は、同じサブファミリーに属するオオムギの C-ホルデンイン及びライムギの  $\omega$ -セカリ

ンとそれぞれ70%及び80%の類似性を持っていた。この $\omega$ -グリアジン遺伝子配列のサザン分析とPCR分析をパンコムギの染色体欠失系統を用いて行った結果、この遺伝子は1A染色体の短腕の末端側25%に座乗していることが明らかになった。

以上のように、本研究は、Gc染色体を利用して得られたパンコムギ及び異種の染色体断片系統は、各種の遺伝子、分子マーカーの物理的な染色体地図作製において有効に利用できることを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

パンコムギにおいては、近縁野生種由来の配偶子致死染色体の作用により染色体切断を誘発し、染色体構造変異を保有する系統を確立することができる。本研究は、パンコムギの染色体欠失系統とパンコムギに添加されているライムギやオオムギ染色体の構造変異を保有する異種染色体断片系統を用いて、各種の遺伝子と分子マーカーの染色体地図作製と新規の物理的染色体地図作製法の開発を行ったものである。

本論文の評価すべき点は以下のとおりである。

1. ライムギの1R染色体の附随体断片を保有するパンコムギ5系統を用いて附随体に座乗するコムギのさび病に対する3種の抵抗性遺伝子 (*Lr26*, *Sr31*, *Yr9*) と種子貯蔵タンパク質セカリンの遺伝子 (*Sec-1*) の物理的染色体地図を作製し、それらの配列が、*Nor-Sec-1-Lr26/Sr31/Yr9-Telomere* であることを明らかにした。
2. さび病抵抗性遺伝子を保有し、小麦粉の品質に有害なセカリン遺伝子を欠如している2系統を得た。これらの系統はコムギ育種に利用される可能性を持っている。
3. オオムギ7H染色体の染色体断片パンコムギ系統とRadiation hybrid mappingの手法を用いて、SSR (simple sequence repeat) 及びAFLP (amplified fragment length polymorphism) という分子マーカーの染色体地図作製を行い、Gc染色体によって誘発された異種染色体断片系統を用いるGC-mappingと命名した新規の物理的染色体地図作製法がコムギの物理的染色体地図作製に非常に有効であることを明らかにした。
4. オオムギのC-ホルデン、ライムギの $\omega$ -セカリンと高いDNA塩基配列における類似性を持つパンコムギの $\omega$ -グリアジン遺伝子を単離し、1A染色体短腕の末端側25%に座乗していることを明らかにした。

以上のように、本論文は、Gc染色体により誘発されたパンコムギ及び異種染色体の断片系統が遺伝子及び分子マーカーの座乗染色体領域を決定する染色体地図作製に有効であることを証明し、また、ヒトのRadiation hybrid mappingに匹敵する染色体地図作製法をコムギにおいて開発したものであり、植物遺伝学、植物育種学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成15年1月14日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。