

氏 名	かど わき こう いち 門 脇 光 一
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 1526 号
学位授与の日付	平 成 元 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	MOLECULAR BIOLOGICAL STUDIES ON MITOCHON- DRIA OF RICE WITH MALE-STERILE CYTOPLASM (細胞質雄性不稔イネミトコンドリアに関する分子生物学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 駒 野 徹 教 授 山 田 康 之 教 授 淺 田 浩 二

論 文 内 容 の 要 旨

雑種強勢を利用する育種法が主要作物の品種改良において重要視されている今日、細胞質雄性不稔の生化学的、分子生物学的機構は未だ明らかでない。本研究はイネの細胞質雄性不稔に關与する細胞質側因子がミトコンドリアであることを明らかにし、またミトコンドリア DNA (mtDNA) について種々の解析を行なったもので、研究の内容は以下のように要約される。

1. 同じ核遺伝子をもつイネの正常細胞質と雄性不稔細胞質よりオルガネラ DNA を単離し、それらの制限酵素切断パターンを比較したところ、mtDNA のみが著しく異なっていた。また雄性不稔細胞質由来の mtDNA 中には低分子プラスミド様 DNA が存在していた。これらの結果はイネ細胞質雄性不稔の細胞質側因子がミトコンドリアであることを示唆していた。

2. 稔性回復遺伝子に対する回復様式が異なる10種類の雄性不稔細胞質から単離した mtDNA の制限酵素による切断パターンには同一パターンを与えるもの、及び異なるパターンを与えるものが存在していた。また雄性不稔細胞質のミトコンドリアには1.09及び0.96 kb の2種類、1.06, 1.09及び0.96 kb の3種類、さらに1.60, 1.25, 1.09及び0.96 kb の4種類のプラスミド様 DNA を含むものが存在していた。1.09 kb DNA は直鎖状構造をしていたが、他は環状構造であった。

3. 栽培イネ細胞質は、その mtDNA 画分中に1.60, 1.25, 1.09及び0.96 kb の4種類のプラスミド様 DNA を含むもの(タイプ I)、1.60及び1.25 kb の2種類を含むもの(タイプ II)、さらに何も含まないもの(タイプ III)の3つのタイプに大別できた。タイプ I と III の細胞質より mtDNA を単離し、電子顕微鏡観察を行なったところ、高分子 mtDNA に加え、小環状 DNA が存在していた。特にタイプ I の中に小環状 DNA が高頻度に見いだされ、複製中間体の存在が確認された。

4. 優性の稔性回復遺伝子の存在下、及び非存在下での雄性不稔細胞質のミトコンドリアの遺伝子発現を見るため、それぞれのミトコンドリアを分離し、内在性のタンパク質合成を行なわせ、生成したタンパク質の解析をしたところ、劣性の非稔性回復遺伝子の存在下で合成される31 kDa のタンパク質は、優性の稔性回復遺伝子によりその合成が著しく抑制されたことから、31 kDa タンパク質と細胞質雄性不稔

との関連性が示唆された。雄性不稔細胞質の mtDNA はアポシトクロム *b* 及び ATP アーゼサブユニット 6 の両遺伝子の構成が正常 DNA の両遺伝子と異なっていた。また雄性不稔細胞質にのみ存在する分子内組み換えで生じたと思われるアポシトクロム *b* 遺伝子を含む DNA 断片の転写が、優性の稔性回復遺伝子により影響を受け、劣性の非稔性回復遺伝子の存在下で転写される mRNA よりも約 200 ヌクレオチド長い mRNA が生成していることを認め、この DNA 断片と細胞質雄性不稔との関連性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

近年、主要作物であるイネ、コムギなどの品種改良においても雑種強勢の利用が試みられつつある。イネのように自殖性の非常に高い作物において、雑種強勢を示す F₁ 雑種を作出するには、花粉が正常に成熟せず、しかもその形質が細胞質遺伝をするいわゆる細胞質雄性不稔を利用することが最も実用的、かつ経済的であると考えられている。本論文はイネの雄性不稔に関与するミトコンドリアについて、その DNA の構造を明らかにし、遺伝子発現に影響を与える稔性回復遺伝子の作用について解析を行なったものである。

著者はまず核遺伝子が同じで、正常細胞質をもつイネと雄性不稔細胞質をもつイネからオルガネラ DNA をそれぞれ単離し、制限酵素による切断パターンを解析して、雄性不稔細胞質の mtDNA が著しく異なっていることを認めた。

次に著者は稔性回復遺伝子に対する回復様式が異なる 10 種類の雄性不稔細胞質由来の mtDNA の制限酵素切断パターンの解析により、これらの mtDNA の 1 次構造が多様であり、それらも直鎖状や環状と多型を示すことを確認した。

さらに著者は栽培イネ細胞質が、単離した mtDNA に含まれるプラスミド様 DNA の種類と数により 3 つのタイプに大別できることを明らかにするとともに、mtDNA の電子顕微鏡観察を行ない、高分子 DNA に加え、小環状 DNA が存在しており、それらが独自に複製していることを認めている。

著者はまたイネ細胞質雄性不稔には、mtDNA 中のアポシトクロム *b* 遺伝子の分子内組み換えで生じた DNA 断片が関与していること、及び分離したミトコンドリア内で合成されている 31 kDa タンパク質が関与していることなどを明らかにしている。

以上のように本論文は、イネ細胞質雄性不稔に関与する mtDNA の諸性質について明らかにしたもので、植物生化学、植物分子生物学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成元年 10 月 12 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、農学博士の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。