

氏名	いし い たか しげ 石 井 尊 生
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 663 号
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科農林生物学専攻
学位論文題目	CYTOPLASMIC AND NUCLEAR GENOME DIFFERENTIATION IN A-GENOME DIPLOID SPECIES OF RICE AS REVEALED BY THE RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM ANALYSIS OF DNAs (DNA の制限断片長多型分析からみたイネ A ゲノム 2 倍種の細胞質及び核ゲノムの分化)
論文調査委員	(主査) 教授 常脇恒一郎 教授 阪本寧男 教授 大山莞爾

論 文 内 容 の 要 旨

制限酵素は DNA 中の特定塩基配列を認識して切断するので、この種酵素の処理によって生ずる断片の電気泳動像の違いから DNA の分子的違いの一部を検出できる。これを利用して、近縁分類群の系統関係を解明する研究がここ 10 年来盛んになっている。イネ属には、2 つの栽培種、*Oryza sativa* と *O. glaberrima* があり、これら両種の起原に関しこれまで多くの研究がなされてきた。本論文は、両栽培種とそれぞれの祖先種とされている *O. perennis* 及び *O. breviligulata* の 4 種について、葉緑体、ミトコンドリア及び核の DNA を制限酵素を用いて分析し、DNA 分子の変異からみた系統関係の確立を試みたものである。得られた内容の主な点は次のとおりである。

1) 葉緑体ゲノムの分化：まず、*O. sativa* 33 品種、*O. glaberrima* 8 品種、*O. perennis* 21 系統、*O. breviligulata* 4 系統より単離した葉緑体 DNA を 3 種制限酵素で処理して泳動パターンを比較し、上記 4 種に 9 型 (1—9 型) の葉緑体ゲノムの分化を認めた。*O. sativa* の生態種、*Japonica* と *Javanica* の 16 品種はすべて 1 型の、*Indica* の多くの品種は 3 型、一部は 1 型または 4 型の葉緑体ゲノムを有していた。*O. perennis* には 4 型と 5 型を除くすべての型が見られたが、1 型や 3 型の葉緑体ゲノムをもっていたのはアジア産の系統のみ (アメリカ産の例外的な 1 系統を除く) であった。*O. glaberrima* と *O. breviligulata* はすべて 5 型の葉緑体ゲノムをもっていた。つぎに、栽培種と野生種に共通にみられた主要な 4 種の葉緑体ゲノム (1, 3—5 型) を延べ 11 種の制限酵素を用いて分析し、これらゲノム間に 6 個の突然変異を同定し、相互の進化的関係を推定した。最後に、*O. sativa* における品種分化を明らかにするため、東南アジア各地から集めた 75 品種の葉緑体 DNA を 6 種制限酵素を用いて分析し、ほとんどは *Japonica-Javanica* に特徴的な 1 型ゲノムか、*Indica* に普遍的な 3 型ゲノムを有しているが、若干の品種は 10—12 型と命名した変異ゲノムをもつことを示した。

2) ミトコンドリアゲノムの分化：*O. sativa* の 8 品種、*O. glaberrima* の 2 品種につき、単離したミ

トコンドリア DNA を 5 種制限酵素で処理して泳動パターンを比較するとともに、*aptA* など 4 遺伝子を含むミトコンドリア DNA 断片をプローブとするサザン分析を行い、*Japonica* (*Javanica* を含む)、*Indica*、*O. glaberrima* の 3 者間で明瞭なミトコンドリアゲノムの分化を認めた。

3) 核ゲノムの分化：*O. sativa* 8 品種、*O. glaberrima* 6 品種、*O. perennis* 13 系統、*O. breviligulata* 3 系統より全 DNA を抽出し、2 種制限酵素で処理した後、*O. sativa* の 12 染色体に対応する連鎖群のそれぞれから 1 個ずつ選んだ DNA クローンをプローブとするサザン分析を行い、そのバンド・パターンの違いから品種・系統間の遺伝的距離を推定したところ、これらの核ゲノムは(1)*Indica* 4 品種と *O. perennis* のアジア産 5 系統、アフリカとアメリカ産各 1 系統、(2)*Japonica* 2 品種と *Javanica* 1 品種、(3) *O. glaberrima* と *O. breviligulata* の全品種・系統及び *Javanica* 1 品種、(4)アメリカ産の *O. perennis* 2 系統、(5)オセアニア産の *O. perennis* 全系統、の 5 群に分けられた。また、*O. sativa* のアジア産 112 品種の全 DNA を同様の方法でサザン分析したところ、典型的な *Indica* 型 (葉緑体ゲノムは主に 3 型) と *Japonica* 型 (葉緑体ゲノムはすべて 1 型)、及び中間型の 3 群に大別された。

以上の結果から、*O. glaberrima* と *O. breviligulata* は細胞質及び核の両ゲノムからみて変異が小さく、*O. glaberrima* は *O. breviligulata* の栽培型とみなせること、*O. sativa* の生態種 *Japonica* と *Javanica* はいずれの点からみても同一に近いこと、*Indica* は比較的大きな変異を含むが、その大部分の品種は均一な分類群を形成していること、*O. perennis* は極めて大きな変異を含んでおり、その一部は *Japonica*-*Javanica* に、他の一部は *Indica* に類似していること、従って、*Japonica*-*Javanica* と *Indica* はこれら *O. perennis* から独立に起原したとみなされること、細胞質と核のゲノム構成からみて核遺伝子の移入が *O. sativa* の一部品種の成立に関与していること、などが結論された。

論文審査の結果の要旨

近縁分類群の系統関係の解明に、核及びオルガネラ DNA の制限酵素分析法やサザン分析法が最近盛んに用いられている。本論文は、これらの方法を用いて、イネ属の 2 倍種、*Oryza sativa*、*O. glaberrima*、*O. perennis* 及び *O. breviligulata* の葉緑体、ミトコンドリア及び核ゲノムの変異を研究し、4 種の系統関係を解明したもので、評価すべき成果は次のとおりである。

1) 4 種の多数の品種・系統について葉緑体 DNA の制限酵素分析を行い、12 型の葉緑体ゲノムの分化を認めた。*O. sativa* の 2 生態種 *Japonica* と *Javanica* の全品種は 1 型ゲノムを、別の生態種 *Indica* の多くの品種は 3 型ゲノムをもつこと、*O. perennis* は多様な葉緑体ゲノムを有し、そのうち、アジアに分布するものに 1 型及び 3 型ゲノムがみられること、及び *O. glaberrima* と *O. breviligulata* は共通に 5 型ゲノムをもつことを明らかにした。

2) *O. sativa* と *O. glaberrima* のミトコンドリア DNA のサザン分析を行い、これらのミトコンドリアゲノムに、*Japonica* (*Javanica* を含む)、*Indica*、*O. glaberrima* 3 群の分化を認めた。

3) 4 種の計 30 品種・系統から全 DNA を抽出し、12 連鎖群を代表する DNA 断片をプローブとしてサザン分析を行い、これらの核ゲノムが、(1) *Indica* とアジア産 *O. perennis* など、(2) *Japonica* と *Javanica*、(3) *O. glaberrima* と *O. breviligulata*、(4) アメリカ産 *O. perennis*、(5) オセアニア産 *O. perennis* の

5群に分かれることを示した。また、*O. sativa* のアジア産112品種の核DNAのサザン分析から、これらは典型的な *Japonica* 型と *Indica* 型、及び中間型に3大別されることを明らかにした。

4) 以上の結果から、*O. perennis* が最も変異に富み、ついで、*Indica* の変異が大きく、*Japonica-Javanica* と *O. glaberrima*—*O. breviligulata* は変異に乏しいこと、*Japonica-Javanica* と *Indica* は二元的に *O. perennis* から、*O. glaberrima* は *O. breviligulata* から起原したこと、などが結論された。

以上のように、本論文はイネ属 A ゲノム 2 倍種の系統関係について多くの新知見を加えたもので、植物遺伝学及び栽培植物起原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3年2月28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。