

氏名	かけ だ かつ ゆき 掛 田 克 行
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 700 号
学位授与の日付	平 成 4 年 1 月 23 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 農 学 専 攻
学位論文題目	植 物 に お け る 染 色 体 解 析 法 の 開 発 と そ の 遺 伝 育 種 学 的 利 用 に 関 する 研 究
論文調査委員	(主 査) 教 授 山 縣 弘 忠 教 授 重 永 昌 二 教 授 常 脇 恒 一 郎

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、オオムギ、イネ、トウモロコシ等を供試し、画像解析法、分染法等の新しい染色体解析法を開発するとともに、それらの手法を用いて植物染色体の形態、構造及び機能に関する諸特性の解析を行った成果を、3編6章にとりまとめたものである。

第I編(第1章、第2章)は画像解析に関する研究をまとめたものである。

第1章では、オオムギ2品種を供試し、染色体画像解析システムCHIASを用いて中期核板像の自動検出、並びに核型及びバンドパターンの測定を行い、これら一連の調査において同システムが十分実用可能であることを実証するとともに、得られた測定データに基づきオオムギ染色体のイディオグラムを確立した。つぎに、250核板について測定した核型を分裂ステージ間で比較し、染色体の相対長及び腕比は分裂ステージの進行に伴って様々に変化することを見出し、このような核型の変異は各染色体腕の凝縮率がステージ間で異なることに起因していることを明らかにした。

第2章では、イネ1品種を供試し、前中期染色体の凝縮度の違いをCHIASで得られた染色分体中軸部の濃度分布曲線に基づいて定量化し、画像パラメータ(“凝縮型”)並びに染色体の長さ及び腕比を比較・検討することにより、二倍体細胞において各相同染色体を客観的に識別できることを明らかにした。

第II編(第3章、第4章)は分染に関する研究をまとめたものである。

第3章では、まず、オオムギ4品種を供試し、C及びN分染を行って従来報告されているオオムギ染色体のC及びNバンドパターンの変異に再検討を加え、どの品種においても各染色体の動原体部位にはN分染法で染まりC分染法では染まらない(N^+C^-)バンドが出現すること、各染色体のバンドパターンには両分染法に共通する明瞭な品種間差異があること、さらにこのようなバンドパターンの変異はヘテロクロマチン自体の分化に基づくものであることを明らかにした。つぎに、106のオオムギ相互転座系統についてC及びN分染法による切断点の位置決定を行い、90系統の転座染色体腕及び切断点を決定するとともに、染色体切断がインターバンド部位で起こりやすいことを示した。

第4章では、トウモロコシの1自殖系統を用いてトウモロコシにおけるG分染法の開発を行い、酵素解離—空気乾燥法により作製した染色体標本をトリプシンまたはSDSで処理することによって、前中期の染色体全体にわたって高精度のGバンドを再現性よく得ることに成功した。さらにGバンドの出現様式並びに生成機構を動物植物間で比較・検討し、両者のGバンド構造に差異がある可能性を指摘した。

第Ⅲ編（第5章、第6章）は免疫学的及び分子生物学的研究をまとめたものである。

第5章では、イネ、オオムギ、ライムギ及びマカロニコムギについて、S期の種々の時期に取り込ませたBrdUの染色体上の分布パターンを抗BrdU抗体を用いた免疫学的手法により調査し、オオムギ及びイネでは概ね染色体の端部から複製が始まり、つづいて中間部、基部の順に複製が進行するのに対して、ライムギ及びマカロニコムギでは染色体の中間部、基部、端部の順に複製が進行すること、及びCバンドの複製時期は植物種間及びバンド間で必ずしも一致しないことを明らかにするとともに、得られた結果に基づき、植物では、どの種においても染色体の複製は基部、端部または中間部等の比較的大きな染色体部分を単位としてそれぞれ同調的に起こることを指摘した。

第6章では、日本型及び印度型イネを供試し、ピチオンで標識したrRNA遺伝子をプローブに用いて*in situ*ハイブリダイゼーションを行い、日本型イネではrRNA遺伝子は仁染色体の仁形成部位に位置するのに対し、印度型イネでは仁染色体以外にも様々な染色体部位にこの遺伝子が散在していることを示した。

論文審査の結果の要旨

植物においては、染色体の同定が不完全な種が多く、また、一部の種を除き染色体の微細な構造変異の検出はきわめて困難である。一方、近年遺伝育種の研究においては、細胞・分子レベルの研究の急速な進展に伴い、体細胞雑種植物における染色体構成の解析、形質転換植物における導入遺伝子の染色体上の挿入部位の特定、さらには遺伝子やRFLPマーカーの染色体上での位置づけなど、多くの場面で染色体調査の重要性が高まっている。

著者は以上の観点より、オオムギ、イネ、トウモロコシ等数種のイネ科植物を供試して、染色体の画像解析法、分染法その他の新手法確立に関する実験を行い、植物染色体の形態、構造及び機能に関する諸特性を解析した。得られた主な研究成果は以下のとおりである。

まず染色体の画像解析に関する研究では、(1)オオムギを用いて、染色体画像解析システムCHIASが実際の染色体解析の場面で十分実用可能であることを実証するとともに、CHIASによる染色体長及びバンドパターンの測定結果に基づいてイデオグラムを確立し、さらに、分裂ステージの進行に伴う核型変異の原因を明らかにした。(2)イネを用いて、前中期染色体の凝縮度の違いをCHIASにより定量化し、これを新たなパラメータとすることによって、各相同染色体を客観的に識別できることを明らかにした。

つぎに染色体分染に関する研究では、(1)オオムギにおいて高精度のC及びN分染法を開発し、バンドパターンの分染法間及び品種間差異を明らかにして、バンドパターンの変異に新知見を加えるとともに、90の相互転座系統について転座染色体腕及び切断点を決定した。(2)トウモロコシにおいて、従来植物細胞学の分野で強く望まれてきた高精度のG分染法の確立に成功し、さらにGバンドの出現様式並びに生成

機構の比較から動物と植物の間で G バンド構造に差異があることを示唆した。

最後に免疫学的手法並びに分子生物学的手法を用いた研究では、(1)抗 BrdU 抗体を用いてイネ、オオムギ、ライムギ及びマカロニコムギにおける染色体の複製パターンを明らかにし、植物における染色体の複製は、基部、端部または中間部等の比較的大きな部分単位で起こることを示唆した。(2)イネにおいて、ピチオン標識 DNA をプローブとする、RI を用いない *in situ* ハイブリダイゼーション法を開発し、rRNA 遺伝子の染色体上の位置が日本型イネと印度型イネとで異なることを見出した。

以上のように、本論文は植物における染色体の解析手法並びにその遺伝育種学的利用に関して重要な新知見を加えたものであり、育種学、細胞遺伝学並びに植物の染色体工学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 3 年 12 月 26 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。