

氏 名 カーメン ストヤノフ ツベツコフ
Kamen Stoyanov Tsvetkov
 学位(専攻分野) 博 士 (農 学)
 学 位 記 番 号 農 博 第 1070 号
 学位授与の日付 平成 11 年 5 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 INTRODUCTION OF RYE CHROMOSOMAL SEGMENTS INTO COMMON
 WHEAT BY MEANS OF GENETIC GENOME REARRANGEMENT
 (遺伝的ゲノム再編成を利用したライムギ染色体断片のパンコムギへの導入)

論文調査委員 (主 査)
 教授 遠藤 隆 教授 大西近江 教授 池橋 宏

論 文 内 容 の 要 旨

パンコムギは世界で最も広く栽培され、イネと並んで、最も多くの人口を養っている作物である。20 世紀に始まった科学的な育種によりパンコムギの生産性は飛躍的に高まったが、近年、既存品種の遺伝資源だけでは一層の生産性向上が期待できなくなっている。本研究は、パンコムギの遺伝的特性を改良する目的で、遺伝的に誘発されるゲノム再編成を利用して近縁種の有用遺伝子を含む染色体断片をパンコムギに導入するシステムを開発することを目的とした。

そのモデルとして、パンコムギの 1B 染色体と置換しているライムギの 1R 染色体を、ゲノム再編成誘発には近縁野生種 *Aegilops triuncialis* 由来の 3C 染色体に座乗する配偶子致死遺伝子 (*Gc1*) を用いた。パンコムギにこの 2 種の異種染色体を交配により導入し、染色体構造変異がその子孫で誘発される系統を育成した。この系統には、パンコムギの 1B 染色体を除く 20 対の染色体にライムギ 1R 染色体が 1 対、3C 染色体 1 本が添加されており ($20W'' + 1R'' + 3C'$)、3C 染色体を含まない配偶子で選択的に染色体の構造異常が誘発される。この染色体突然変異は致死性ではないので、変異染色体は子孫に伝達する。このような子孫の染色体構成を染色体分染 (C バンド法) 及びライムギの全 DNA をプローブとした蛍光による分子雑種形成法 (Genomic in situ hybridization: GISH) により調査した結果、自家受精子孫で 20% 以上、正常パンコムギでの戻し交配子孫で 10% 以上の個体に 1R 染色体の何らかの構造変異が見い出され、その後代において合計 158 の 1R 染色体が関与する欠失、逆位、コムギ染色体との転座などの染色体構造変異を有する系統を選抜することができた。

これらの変異 1R 染色体は GISH により同定され、その切断点が明らかにされた。その結果、1R 染色体の構造異常のうち約 40% は欠失で、残りはほとんどコムギ染色体との転座であった。二次狭窄を含む明らかな逆位 1 例と重複 2 例も観察された。転座には、1R 染色体とコムギ染色体が動原体において切断、融合しているロバートソン型転座、1R 染色体にコムギ染色体断片が転座しているもの、コムギ染色体に 1R 染色体断片が転座しているものが存在した。欠失及び転座の切断点は、動原体、1R 染色体の長腕、短腕、二次狭窄、付随体のすべてにおいて観察された。このように 3C 染色体による染色体切断は 1R 染色体のどの部位においても誘発され得ることが示されたが、欠失や転座の切断点の頻度は、長腕においては短腕より高く、さらに、どちらの染色体腕においても、動原体近傍で最も高く、次いで末端付近で高く、そして中間部では明らかに低くなっていた。また、1R 染色体の長腕はコムギ染色体の長腕と、1R 染色体の短腕はコムギ染色体の短腕と転座しやすい傾向が認められた。このように、本研究のゲノム再編成誘発システムによりあらゆる型の構造変異が 1R 染色体に誘発され得ることが明らかになった。

さらに、このシステムのコムギ育種への応用の可能性を探る目的で、1R 染色体の付随体に座乗しており、パンコムギの品質を低下させていると考えられているセカリンの遺伝子の有無を、1R 染色体の付随体が欠失した 4 系統について PCR 法で調査した。調査したすべての系統で PCR による DNA の増幅は見られず、セカリンの遺伝子座が付随体の末端側に存在することが明らかになった。セカリンの遺伝子には病害抵抗性遺伝子が強く連鎖していることが知られているので、セカリ

ンの遺伝子座を失った1R染色体が直ちに育種的に有用とはならないであろうが、数多くの選抜により、1R染色体の病害抵抗性遺伝子座を保持し、セカリンの遺伝子座のみを消失した系統が得られる可能性が示唆された。

以上のように、本研究はパンコムギに導入された近縁種の染色体に遺伝的な構造変異を誘発するシステムが有効に機能することを証明し、1R染色体の構造変異系統を用いれば、1R染色体に座乗する遺伝子やDNAマーカーの座位を物理的に決定することができ、1R染色体地図作成に有用であることを明らかにした。また、ごく小さな1R染色体断片の欠失やコムギ染色体末端への転座が少なからずあり、本研究のゲノム再編成誘発システムはコムギの育種にも有効に利用され得ることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

パンコムギでは、近縁野生種由来の配偶子致死遺伝子(*Gc1*)により染色体構造変異を誘発することができる。本研究は、パンコムギの遺伝的特性を改良する目的で、遺伝的に誘発されるゲノム再編成を利用して近縁種から有用遺伝子をパンコムギに導入するシステムを開発することを目的としたものである。

本論文の評価すべき点は以下のとおりである。

1. モデルとして、ライムギの1R染色体と*Gc1*遺伝子が座乗する近縁野生種 *Aegilops triuncialis* 由来の3C染色体を交配によりパンコムギに導入し、その子孫において染色体構造変異が誘発される系統(20W''+1R''+3C')を育成した。

2. 1R染色体の構造変異を染色体分染(Cバンド法)及びライムギの全DNAをプローブとした蛍光による分子雑種形成法(Genomic in situ hybridization: GISH)により同定する方法を確立した。従来のGISH法を大幅に簡略化した結果、GISHを1R染色体構造変異の大規模選抜に適用できるようにした。

3. 自家受精子孫で20%以上、正常パンコムギでの戻し交配子孫で10%以上の個体に1R染色体の何らかの構造変異が見い出され、本研究のゲノム再編成誘発システムがパンコムギに導入されている異種染色体の構造変異誘発に極めて有効であることを証明した。

4. GISHにより1R染色体の構造異常の型及び切断点を同定し、3C染色体による染色体切断は1R染色体の動原体、1R染色体の長腕、短腕、二次狭窄、付随体のどの部位においても誘発されうることを明らかにした。同時に、欠失や転座の切断点の分布は、長腕と短腕、染色体部位により異なることも明らかにした。

5. コムギ育種への応用の可能性を探る目的で、パンコムギの品質を低下させていると考えられているセカリン遺伝子の有無を、1R染色体の付随体が欠失した4系統についてPCR法で調査し、セカリンの遺伝子座が付随体の末端側に存在することを明らかにした。

以上のように、本論文は、パンコムギに導入されたライムギ1R染色体に対し3C染色体に座乗する*Gc1*遺伝子によるゲノム再編成誘発システムが有効に機能すること、そして、誘発された構造変異がライムギの染色体地図作成やコムギの育種に有用であることを明らかにしたものであり、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11年3月8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。