

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	Yadav Prasad Gyawali
論文題目	Cytological dissection and genetic analysis of rye chromosome 1R (ライムギ1R染色体の細胞遺伝学的断片化と遺伝解析)		
(論文内容の要旨)			
ライムギ (<i>Secale cereale</i>、ゲノム構成 RR、2n=14) は低温耐性や病害抵抗性など農業上有用な形質を多数保有する。ライムギの7本の染色体は、交配によってそれぞれパンコムギ (<i>Triticum aestivum</i>、ゲノム構成 AABBDD、2n=42) に導入され、ライムギ染色体添加系統というパンコムギの系統が育成されている。ライムギ染色体の中でも1R染色体と呼ばれる染色体は特に重要で、各種のさび病、うどんこ病などの病害抵抗性遺伝子や生育力に関係する遺伝子を保有している。ライムギの有用遺伝子をパンコムギ育種において有効に利用する上で、ライムギのゲノムを解析することは必須である。しかし、ライムギのゲノムはイネに較べて20倍近く大きく、さらに、ゲノムの90%以上が反復配列であるので、解読したDNA塩基配列の断片を連続配列 (コンティグ) に組立てることは極めて困難であることが予想される。 本研究は、将来のライムギのゲノム解析に資することを念頭に、すでに多くのパンコムギ実用品種に導入されているライムギの1R染色体を物理的 (細胞遺伝学的) に断片化し、1R染色体断片を保有するパンコムギ系統を育成し、その断片をDNAマーカーによって解析すること目的としている。特に、重要な有用遺伝子が座乗する1R染色体短腕に重点を置いている。本論分の内容は以下のように要約される。			
1. 1R染色体断片系統の育成：1R染色体を保有するパンコムギ系統 ‘Burgas2’ に、染色体切断を誘発する配偶子致死染色体を導入し、その子孫に染色体切断を誘発した。子孫植物の染色体構成を、fluorescence in situ hybridization (FISH) とgenomic in situ hybridization (GISH) により調査し、1R染色体断片を同定し、さらに次世代植物から1R染色体断片を一つだけ持つパンコムギの133系統を育成した。これらの1R染色体断片系統の内、44系統は単純な1R染色体の欠失、78系統は1Rとパンコムギ染色体との転座、残りの11系統は切断点を2か所持つ複雑な1R染色体の構造異常を持っていた。一部の転座染色体は明らかに相互転座に由来していたので、それらは同じ切断点を持つと判定した。その結果、1R染色体の短腕に57、長腕に63、動原体に17、合計137の切断点を得た。			
2. 1R染色体特異的DNAマーカーの開発：すでに 9 つのPCRで検出できる1R染色体特異的マーカーが報告されていたが、短腕に座乗するものは2つだけで、7つは長腕に座乗していた。そこで、育種上重要な1R染色体短腕のPCRマーカーの数			

を増やすため、既報のライムギの141のPCRマーカ情報からプライマーを設計し、パンコムギと1R染色体添加系統間で多型を示す1R染色体特異的DNAマーカを探索し、新たに短腕に座乗する25マーカを得た。

3. PCR解析による1R染色体地図の作製：133の1R染色体断片系統を合計34の1R染色体特異的DNAマーカを用いてPCR解析した。その結果、DNAマーカの増幅の有無を1R染色体断片の切断点、及び、動原体と二次狭窄という染色体の目印と関連付けることにより、1R染色体を24の領域に分けることができた。特に1R染色体短腕は17の領域に細分することができた。
4. ライムギ動原体特異的反復配列が染色体に遍在することの発見：ライムギの動原体にはpAWRC.1という特異的反復配列が局在することが知られている。この配列は、FISH法では動原体以外の染色体領域には見出されない。ところが、動原体を含まない1R染色体断片とパンコムギ染色体との転座染色体を有するパンコムギ系統では、PCRによりpAWRC.1配列の増幅が見られた。このことは、コピー数は少ないながら、pAWRC.1配列が動原体以外の染色体領域にも存在することを明らかにした。

本研究で育成した1R染色体断片系統と1R染色体特異的DNAマーカを用いたPCR解析により1R染色体を物理的に細分することを可能にした。この1R染色体の断片化は、将来行われるライムギの全ゲノムDNA配列の解読とコンティグ地図作製において多いに貢献するものと期待される。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を35字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、2,000～5,000 charactersで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

ライムギは低温耐性や病害抵抗性など農業上有用な形質を多数保有する。中でも1R染色体と呼ばれる染色体は特に重要で、各種のさび病やうどんこ病などの病害抵抗性遺伝子や生育力に関係する遺伝子を保有している。ライムギのゲノムはイネに較べて20倍近く大きく、また、ゲノムの90%以上が反復配列であるので、そのゲノム解析は極めて困難であることが予想される。

本研究は、将来のライムギのゲノム解析に資することを念頭に、ライムギ1R染色体を細胞遺伝学的に断片化し、パンコムギの1R染色体断片系統を育成し、その断片をDNAマーカーによって解析すること目的としている。本論分の評価すべき主な点は以下の通りである。

1. 1R染色体断片系統の育成：ライムギ1R染色体は大きく、その1対の染色体のDNA量はイネゲノム全体のDNA量を上回る。このような巨大な染色体のゲノム解析を行うには染色体の物理的な細分化が望まれるが、これまで、短腕と長腕に分断された系統が育成されていただけであった。本研究において、1R染色体を少なくとも24の領域に細分化する系統を育成したことは、今後の1R染色体のゲノム解析に大いに資する。
2. 1R染色体特異的DNAマーカーの開発：1R染色体特異的DNAマーカーはこれまで少数しか報告されていなかった。本研究で新たに25の1R染色体短腕特異的マーカーを開発したことは、1R染色体短腕に座乗する病害抵抗性遺伝子などの遺伝解析に大いに資する。
3. 1R染色体の細胞遺伝学的地図の作製：1R染色体断片系統と1R染色体特異的DNAマーカーを利用して作製した細胞遺伝学的地図は、1R染色体の実際の物理的構造を示しており、将来のライムギゲノムのコンティグ地図作成に大いに資する。
4. 動原体特異的反復配列が染色体に遍在することの証明：動原体特異的反復配列が動原体以外の染色体領域に存在することを実証することは困難であった。本研究では、1R染色体の動原体を持たない1R染色体断片を有する系統において、ライムギの動原体特異的反復配列pAWRC.1がPCRにより増幅することを明らかにした。この結果は、動原体特異的反復配列が動原体だけに局在するのではないことを初めて実証したもので、今後の動原体の構造や機能の研究に大いに資する。

以上のように、本論文は、多数の1R染色体断片系統育成し、PCRで検出できる1R染色体（特に短腕）特異的DNAマーカーを新たに開発し、PCR解析により1R染色体の細胞遺伝学的地図を作製した研究であり、植物遺伝学ならびに植物育種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22年9月16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。

注) 論文審査の結果の要旨の結句には、学位論文の審査についての認定を明記すること。
更に、試問の結果の要旨（例えば「平成 年 月 日論文内容とそれに関連した
口頭試問を行った結果合格と認めた。」）を付け加えること。

Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。
要旨公開可能日： 年 月 日以降