

氏 名	施 芳 ^{フアン}
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1119 号
学位授与の日付	平成 12 年 3 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 応 用 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	A Genetic Study on the Introduction of Barley Genes into Wheat Using the Genetic Rearrangement System (遺伝的ゲノム再編成システムを利用したオオムギ遺伝子のパンコムギへの導入に関する遺伝学的研究)

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 ($2n=6x=42$, ゲノム AABBDD) は、イネ、トウモロコシとならぶ世界三大作物である。パンコムギは栽培の過程で遺伝的多様性を失い、狭い遺伝子プール内での育種を余儀なくされ、近縁の野生種や作物からの有用遺伝子の導入が望まれている。これまで、種・属間雑種の作出、染色体添加・置換系統の育成、放射線照射のような人為突然変異の誘発や同祖染色体対合を利用して異種染色体断片をパンコムギのゲノムに導入する試みがなされてきたが、その効率は実用的ではなかった。

本研究は、パンコムギに新しい有用遺伝子を近縁の野生種や作物から導入する独創的な遺伝的ゲノム再編成システムの構築を目指した研究の一環として、オオムギ ($2n=2x=14$, HH) の染色体断片をパンコムギに転座によって導入することを目的として実施された。オオムギ染色体は、7 種類 (1H~7H) 中 6 種類 (2H~7H) がパンコムギに各々導入され、既にオオムギ染色体添加系統が育成されている。また、パンコムギに染色体構造変異を誘発するシステムとして、野生種 *Aegilops cylindrica* ($2n=28$, CCDD) の特定の染色体 (2C) によるものが確立しており、これを利用してパンコムギの染色体に欠失を起し、多数の欠失系統が育成されている。2C 染色体がパンコムギに導入されると、分子のメカニズムは不明であるが、自らを含まない配偶子において染色体切断が多発する。

本研究の第一段階は、上記のオオムギ染色体添加系統に 2C 染色体を導入して、染色体構造変異を生じるパンコムギの系統を育成することであった。まず、6 系統のオオムギ染色体添加系統それぞれにパンコムギの 2C 染色体添加系統を交配し、その F1 にそれぞれのオオムギ染色体添加系統を戻し交配した。この戻し交配子孫から染色体数 $2n=45$ で各オオムギ染色体を 1 対、2C 染色体を 1 本含む個体を C-バンド分染法により選抜して、基本系統とした。この基本系統の子孫において、オオムギ染色体を含む染色体の構造変異が生じることが期待された。

第二段階として、育成された 6 基本系統について、それぞれの子孫におけるオオムギ染色体の構造変異の出現状況を調査した。オオムギ染色体の末端の欠失とオオムギとパンコムギの染色体断片を区別することが必須であったので、蛍光分子雑種形成法 (FISH: fluorescence in situ hybridization) とゲノム分子雑種形成法 (GISH: genomic in situ hybridization) を用いた。FISH にはプローブとしてオオムギ染色体に特有で染色体の末端に局在する HvTO1 配列を用いた。GISH にはオオムギの全ゲノム DNA をプローブとして用いた。さらに、異常の起っているオオムギ染色体腕を同定する必要から、同一プレパラートについて N-バンド分染法と GISH を連続して行う手法を開発した。この調査の結果、どのオオムギ染色体にも構造異常は 2C 染色体によって誘発されることが明らかになり、その頻度は、自殖子孫で 6.7% ~ 33.3%, 戻し交配子孫で 13.6% ~ 16.7% であった。

第三段階として、2C 染色体の染色体切断作用の特徴を明らかにするため、オオムギ染色体の一つ (7H) を選んで集中的

に構造異常の選抜を行った。本実験では、7Hの基本系統と7Hの二染色体添加系統間の正逆交配子孫649個体を調査した。7H染色体の構造異常を詳しく調査するため、N-バンド分染法に続いて同じプレパラートにFISHとGISHを同時に行う新しい方法を開発して用いた。この結果、7Hの基本系統を母親にした場合74個体(16.9%)、逆交配では39個体(18.5%)の子孫が7H染色体のなんらかの構造変異を有することが明らかになった。これらの個体から合計89の7H染色体構造変異を同定した。その内訳は、末端欠失が49、7Hの動原体を持つ転座が13、コムギ染色体の動原体を持つ転座が20、介在転座が1、二動原体転座が2であった。7H染色体上での切断箇所は、短腕では均一に分布しているようであったが、長腕では、やや動原体寄りと末端近くの領域に集まっている傾向が見られた。

以上のように、本研究は、2C染色体による遺伝的ゲノム再編成のシステムがパンコムギに導入されているオオムギ染色体にも有効に作用することを明らかにした。そして、パンコムギ染色体へのオオムギ染色体断片の移入が高い頻度で起こることから、この遺伝的ゲノム再編成システムは、パンコムギに異種の有用遺伝子を導入して育種母本を育成するために利用できるものと期待されている。

論文審査の結果の要旨

世界の重要作物の一つであるパンコムギは栽培化の過程で遺伝的変異が狭まり、育種による生産性の向上が頭打ちになっている。そこで、パンコムギ近縁の野生種や作物からの有用遺伝子の導入が望まれている。本研究は、パンコムギにオオムギの有用遺伝子を独創的な遺伝的ゲノム再編成システムを利用して導入することを目的として実施された。

本論文の評価すべき点は以下のとおりである。

1. オオムギの染色体(7種類中6種類)が各々パンコムギに導入されている系統に、ゲノム再編成を誘発する2C染色体を交配と選抜により導入し、パンコムギのゲノム中に存在するオオムギ染色体に構造変異が誘発されることが期待できる基本系統を育成した。

2. 基本系統の子孫の染色体構成を調査し、どのオオムギ染色体にも欠失や転座という構造変異が高い頻度で起こることを確認した。これは、従来の人為突然変異や同祖染色体対合を利用する場合に比べ、非常に効率のよいもので、世界ではじめて遺伝的ゲノム再編成システムを利用してオオムギ染色体に構造変異を誘発できることを明らかにした。

3. 染色体構成の調査において、オオムギとパンコムギ染色体を区別し、オオムギ染色体末端の欠失を確実に同定する実験手法を開発・利用した。これは、染色体分染法であるN-バンド法と分子雑種形成法であるFISHやGISHを組み合わせたもので、欠失や転座の切断点がオオムギ染色体の長腕、短腕のどちらに生じたか、又、その切断点の染色体上での大体の位置を明らかにすることができるもので、同様な実験には非常に有効な技術である。

4. オオムギの一つの染色体(7H)について大規模な選抜を行い、2C染色体による染色体構造変異の特徴を明らかにした。欠失や転座の切断点は7H染色体短腕上全体に分布しているようであったが、長腕上では特定の領域に集中する傾向が見られた。これらの変異染色体は、7H染色体の細胞遺伝学的地図作製には大変有用である。

5. 調査した649個体から20のパンコムギにオオムギの染色体断片が移入されている転座染色体を得た。この頻度は、本研究の遺伝的ゲノム再編成システムが有用遺伝子を含む異種染色体断片のパンコムギへの導入において有効であることを実証したものであり、パンコムギの育種において重要な進展をもたらすものと期待される。

以上のように、本論文は、パンコムギに導入されたオオムギ染色体に対し2C染色体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オオ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12年2月17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。