

氏 名	笹 沼 恒 男
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1052 号
学位授与の日付	平成 11 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	Molecular Evolutionary Analysis of the Multigene Family of the Small Subunit of Ribulose-1, 5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase (<i>rbcS</i>) in Wheat and its Relatives (コムギ及び近縁種における多重遺伝子族リブローズー1、5-二リン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ小サブユニット (<i>rbcS</i>) の分子進化学的解析) (主査) 論文調査委員 教授 遠 藤 隆 教授 大 西 近 江 教授 佐々木義之

論 文 内 容 の 要 旨

本研究では、植物における多重遺伝子族の進化機構を明らかにすること及びコムギ倍数性進化を核遺伝子の塩基配列レベルから明らかにすることを目的として、コムギとその近縁種における Ribulose-1, 5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase (*rbcS*) の分子進化学的解析を行った。多重遺伝子族は新しい遺伝子の成立、ひいては生物の複雑化が起きる上で重要な役割を担っていると考えられる。したがって多重遺伝子族の進化様式を解明することは生物の進化を考える上で重要な情報をもたらすと考えられる。動物に比べて植物においては多重遺伝子の進化に関する研究が少なくその機構はあまり明らかになっていない。本研究は植物における多重遺伝子の進化に関する情報の不備を補うものである。またコムギにおいては様々な手法を用いて倍数性進化の過程が調べられてきたが、核遺伝子の塩基配列のレベルからの研究はまだなされていない。本研究では、核遺伝子である *rbcS* の塩基配列のレベルからコムギの倍数性進化の過程を明らかにした。

まず始めに、コムギ及び近縁種における *rbcS* の進化機構を解明する最初の手がかりとして、イネ科 3 族 15 種を材料とした PCR によって得られた *rbcS* の塩基配列を決定し、進化学的解析を行った。その結果、これらの種の *rbcS* はイントロンの長さの違いから 2 つのタイプ (A と B) に分かれることが明らかになった。また、タイプ内及びタイプ間の違いを種内、種間、属間、族間の 4 つの分類レベルで調べた結果、コムギ族の系統でタイプ間のエクソンの変異が減少していることがわかった。このことから、コムギ族の系統においてエクソン配列の均一化が起きていることが示唆された。

次に、上で示されたタイプ A、B 以外の *rbcS* があるのかという疑問を解明するため、パンコムギのゲノミクライブラリーをスクリーニングし、*rbcS* の構造解析を行った。解析の結果、パンコムギの *rbcS* にはイントロンの長さ及び配列の違いから前述の 2 タイプ以外に、少なくとも 3 つのタイプが存在することがわかった。さらに、これらはイントロンの配列の相同性から I (A、B、E) と II (C、D) の 2 つのクラスに大別された。また、3' 非翻訳領域の配列を比較した結果、2 つのクラスは 3' 非翻訳領域についても明確に分化していることがわかった。また、クラスの分化と座乗染色体との関係を解明するため、パンコムギのナリテトラソミック系統を用いたサザン解析を行ったところ、クラス I は 2 群、クラス II は 5 群染色体に座乗していることが判明した。

さらに、上述のようなエクソン配列の均一化が、座乗染色体の異なる 2 つのクラス間でも起こっているのかどうかを解明するために、クラス I とクラス II の変異量を比較した。クラス II に属するタイプ C について、イネ科 2 族 14 種から得た *rbcS* の配列を決定し、第 1 部と同様の解析を行った。その結果、タイプ間の変異量は分類レベルにかかわらず一定であり、2 つ

のクラス間ではエクソン配列の均一化が起こっていないということが明らかになった。また、クラス内の変異を比較したところ、クラスⅡの遺伝子は、クラスⅠの遺伝子に比べエクソン1の領域における変異量がきわめて少ないということもわかった。

次に、*rbcS*の塩基配列変異にもとづいてコムギ倍数性進化を解明するため、倍数性進化に関与したとされる2, 4, 6倍性種9種より得られたタイプCの塩基配列を比較した。その結果、シトプシス節5種のうち、*Aegilops speltoides*が倍数性コムギのB. Gゲノムに対してもっとも遺伝的距離が近く、この種が倍数性コムギのB. Gゲノムドナーであることが示唆された。また、*Triticum araraticum*と*Ae. speltoides*との遺伝的距離が*T. dicoccoides*と*Ae. speltoides*の距離よりも近かったことから、2種類の4倍性コムギ（エンマー系とチモフェービ系）の2起源性が示唆された。

本研究の結果は、コムギ及び近縁種の多重遺伝子族*rbcS*が2つのクラスにわかれた後、さらにいくつかのタイプに分化していくという現象の存在を示すものである。また、コムギ倍数性進化については、*Ae. speltoides*がBゲノム提供親であるという、これまで言われてきた仮説を強く支持するものとなった。

論文審査の結果の要旨

多重遺伝子族は、新しい遺伝子の成立、ひいては生物の複雑化が起きる上で重要な役割を担っていると考えられる。したがって、多重遺伝子族の進化様式を解明することは生物の進化を考える上で、重要な情報をもたらすと考えられる。また、コムギにおいては様々な手法を用いて倍数性進化の過程が調べられてきたが、特定の核遺伝子の塩基配列レベルでの研究はまだなされていない。本論文は、植物の核にコードされる多重遺伝子族*rbcS*を、コムギ及び近縁種を材料にして分子進化学的に解析したものである。

本論文の評価すべき点は以下のとおりである。

1. コムギ及び近縁種における*rbcS*のサブファミリー構造を明らかにした。

本論文では、コムギ及び近縁種の*rbcS*がイントロンの配列の違いにより、クラスⅠ、Ⅱという二つのサブファミリーに分かれ、さらにイントロンの長さの違いにより、それぞれのクラスがA. B. E及びC. Dという5つのタイプに分かれるということを明らかにした。このような*rbcS*のサブファミリー構造は双子葉植物において多く報告されているが、単子葉についてのものはなく、本研究が初めての報告となる。

2. それぞれのタイプの座乗染色体を明らかにした。

ナリテトラソミック系統を用いることにより、それぞれのタイプの*rbcS*の座乗染色体を調べ、2つのクラスが別の染色体に座乗していることを明らかにした。この結果は、サブファミリーの分化において座乗染色体の違いが重要な役割を果たすことを示唆するものであり、多重遺伝子族の進化を考える上での重要な情報であると考えられる。

3. エクソン配列の均一化という現象を明らかにした。

本論文では、タイプ内及びタイプ間の変異量を種内、種間、属間、族間の4つの分類レベルで比較し、タイプA. B間ではコムギ族の系統でエクソン配列の均一化が起こっていることを示した。また、座乗染色体の異なる2つのクラスでは、エクソン配列の均一化は見られず、均一化のメカニズムが座乗染色体と関係していることを示唆した。このようなエクソン配列の均一化は、分子進化学上興味深い現象であり、多重遺伝子族の進化の一つの特徴であると考えられる。

4. *rbcS*の変異量がタイプによって異なることを明らかにした。

本論文は、A. B. Cという3つのタイプの*rbcS*について変異量を推定し、座乗染色体の異なるクラスⅡに属するタイプCは他のタイプに比べ、エクソン1の変異量がきわめて少ないということを明らかにした。この結果は多重遺伝子族の遺伝子の機能的分化の一過程を示していると考えられる。このことは、新しい遺伝子の成立を考える上で重要な情報である。

5. 特定核遺伝子の塩基配列に基づいてコムギ倍数性進化を明らかにした。

コムギ倍数性進化はこれまで様々な手法を用いて調べられてきたが、核遺伝子の塩基配列レベルでの研究はまだほとんどなされていない。本研究では、*rbcS*タイプCという特定の核遺伝子の塩基配列を比較することにより、*Ae. speltoides*から得た配列が倍数性コムギのBゲノムから得た配列にもっとも遺伝的に近いという結果を得た。この結果は、倍数性コムギのBゲノム提供親が*Ae. speltoides*であるという現在もっとも有力な仮説を強く支持した。

以上のように、本論文は、コムギ及びその近縁種における多重遺伝子族の一つである*rbcS*の分子進化学的解析を行ったものであり、コムギ倍数性進化過程の解明に大きく貢献し、植物遺伝学、遺伝進化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。