

氏 名（本籍）	くに ひさ み ゆ き 國 久 美由紀（埼 玉 県）		
学 位 の 種 類	博 士（農 学）		
学 位 記 番 号	博 乙 第 2381 号		
学位授与年月日	平成 20 年 5 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科		
学 位 論 文 題 目	栽培イチゴにおけるゲノム特異的 DNA マーカーの開発と品種識別技術への応用		
主 査	筑波大学教授	農学博士	江 面 浩
副 査	筑波大学教授	農学博士	西 村 繁 夫
副 査	筑波大学教授	Ph. D.	渡 邊 和 男
副 査	筑波大学准教授	農学博士	半 田 高

論 文 の 内 容 の 要 旨

栽培イチゴ (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) は産業上重要な作目の一つであり、活発な育種事業により、次々と新品種が育成されている。しかし栽培イチゴは高次倍数体（八倍体）で、ゲノム構成も未だ解明されておらず、マーカー解析や遺伝解析、またこれに基づく効率的育種の実施が困難である。そのため、イチゴでは他作物に比べこれらの研究が大きく遅れている。

本研究では、複数ゲノムの複合体であるとされるイチゴゲノムのうち、単一ゲノムのみを特異的に検出するゲノム特異的（DNA）マーカーの作出を実施した。はじめに、PCR で増幅された同祖遺伝子群を塩基配列に基づいてクラスター分析すると 3 ～ 4 群に分類できた。この分類がイチゴのゲノム構成を反映していると仮定し、特定の遺伝子群に特異的な配列を利用してプライマーの設計を行った。多型検出は CAPS 法で行った。その結果、非特異的に遺伝子群を増幅した場合に比べ、得られる多型の明瞭性は大幅に向上し、disomic 植物の場合と酷似したマーカーが得られた。続いて、自殖・交配系統を用いて、これらのマーカーの遺伝様式を解析したところ、大部分のマーカーが disomic 遺伝する可能性が高いことを確認した。イチゴで disomic 遺伝する DNA マーカーの報告は例がない。また、polysomic 遺伝を示唆する遺伝様式が全く見られなかったことから、イチゴゲノムが AAA'A'BBB'B'（完全複二倍体）に近い構成をとっていると推測された。更に、*Fragaria* 属野生種におけるゲノム特異的マーカーの増幅の有無を調査することにより、*F.vesca*（二倍体）が最低一組のゲノム祖先種であることを示したが、その他の祖先種は供試種には見られなかった。

続いて、DNA マーカーを利用したイチゴの品種識別技術の開発に取り組んだ。平成 13 年頃、栄養繁殖性であるイチゴが無断増殖され、品種育成者の許可を得ずに栽培、流通されているという事態が懸念され始めた。特に海外から輸入されたイチゴの中に、公的機関育成の品種が混入している疑いが強く、事実であれば国内のイチゴ生産者にとって著しい不利益となる。このため、「育成者権侵害」を立証できる DNA 品種識別法の開発が強く望まれていた。

そこで著者らは、栽培イチゴで開発した DNA マーカーを利用して品種識別技術の確立を試み、25 のマーカーを用いることで、突然変異系統を除く 117 品種が識別可能であることを明らかにした。

品種検出技術の再現性を保証するには、適正な試験に基づいて、感度・特異性を明示する必要がある。本

研究では、AOAC International の指定する定性分析法の妥当性確認試験基準を参考に、研究室間共同試験を設計・実施した。その結果、10 以上の独立した分析機関において、ほぼ全てのマーカーで感度・特異性共に 95% 以上という良好な再現性が確認できた。再現性の保証された品種識別技術は農作物では初めてであり、現在は信頼度の高い技術として各県、分析センターや税関に技術移転されている。

審 査 の 結 果 の 要 旨

栽培イチゴは高次倍数体（八倍体）で、ゲノム構成も未だ解明されておらず、マーカー解析や遺伝解析、またこれに基づく効率的育種が他作物に比べ大きく遅れている。本研究では、これらの問題に対応するためゲノム特異的 DNA マーカーを作出し、これらを利用してイチゴゲノムが AAA'A'BBB'B'（完全複二倍体）に近い構成をとっていること、更に、*F.vesca*（二倍体）が最低一組のゲノム祖先種であることも示唆した。本研究は、研究の進んでいない倍数性作物でもゲノム特異的 DNA マーカーを開発できることを示唆した点で重要な研究である。続いて、開発した DNA マーカーを利用したイチゴの品種識別技術の開発に取り組み、突然変異系統を除く 117 品種が識別できることを示した。開発した品種識別技術は、信頼度の高い技術として各県、分析センターや税関に技術移転されている。我国では近年イチゴの品種育成が活発に行われ、一方で「育成者権」を保護する必要性が高まっている。本研究はこれらの期待に応えた技術開発である。

以上のように、高次倍数体植物である栽培イチゴにおいてゲノム特定の DNA マーカーの開発が可能であること、それを利用した品種識別技術を開発した論文で、基礎研究としても、開発研究としても大変高く評価される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものとして認める。