

氏名(本籍)	倉本哲嗣(茨城県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第1,641号
学位授与年月日	平成9年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	スギにおける分子マーカー利用による致死遺伝子を考慮した高密度連鎖地図の作成
主査	筑波大学教授 農学博士 生井兵治
副査	筑波大学教授 農学博士 高柳謙治
副査	筑波大学助教授 農学博士 荒木真之
副査	筑波大学教授 理学博士 猪川倫好

論文の内容の要旨

本論文は、わが国で古来よりさまざまな用途に広く利用されてきたスギ (*Cryptomeria japonica* D. Don, n=11) の交雑育種を実用化するうえで不可欠な、各種の分子マーカーと生理・形態などの形質遺伝子を組み合わせた高密度連鎖地図の作成に向けて、必要な手法や基礎情報を構築しようとしたものである。

わが国のスギ育種は、1957年以来、各地で選抜された母樹(精英樹)から得た自然交雑実生を育種材料とした集団選抜が主流である。今後、スギ育種を飛躍的に発展させるためには、精英樹等間の人工交雑による交雑育種を実用化する必要がある。しかし、スギの交雑育種に要する年限は、雑種当代の有用形質の検定にすら30~40年を要するため、交雑育種法を実用化するためには育種年限の短縮法の開発が前提となる。ここで、スギの各種有用形質遺伝子と強く連鎖する分子マーカーを選抜基準とした早期かつ簡便な個体選抜法を確立できれば、育種年限の短縮法として利用できる。したがって、スギにおける精密で詳細な高密度連鎖地図の作成が不可欠であるが、現時点では利用可能な高密度連鎖地図は作成されていない。

そこで本論文では、スギにおける交雑育種の実用化に不可欠な育種年限の短縮法確立のため、精密で詳細な高密度連鎖地図の作成への足掛かりを築くことを目的とし、(1)スギにおける連鎖地図の作成に利用可能な分子マーカーの探索ならびに分子マーカーとマイソザイム遺伝子座や形質遺伝子座を利用した連鎖地図の作成、(2)スギにおける唯一の既報の連鎖地図[RFLP等の分子マーカーに基づく(Mukai et al. 1995)]と本研究で作成した連鎖地図とのSTS(Sequence Tagged Sites:塩基配列標識部位)マーカー利用による統合、(3)スギにおける遺伝子分析の際に各種マーカーや形質遺伝子の遺伝子型の分離に歪みを生じさせる致死遺伝子の検出と致死遺伝子を考慮した地図距離の修正について追求し、以下の先駆的な新知見を得た。

(1)スギにおける高密度連鎖地図の作成に利用できる分子マーカーを探究して、RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA:無作為増幅多型DNA)マーカーでは191マーカーが、ISSR(Inter Simple Sequence Repeat)マーカーでは94マーカーが特定できた。そこで、これらの分子マーカーを利用して連鎖地図の作成を試み、スギの染色体数に相当する11連鎖群には収斂できなかったが、149座からなる17連鎖群で構成されスギのゲノム全域をカバーする総地図距離2,814cMの連鎖地図を作成することができた。また、アイソザイム遺伝子座間では*Shd-1:Lap*(組換え値 $r=0.376$)や*Shd-2:6Pg-1*($r=0.360$)など7対の連鎖関係を明らかにし、またアイソザイム遺伝子座*Shd-1*と矮性形質を支配する*dw-1*遺伝子座間の連鎖関係($r=0.318$)を明らかにすることができた。(2)ス

ギにおける精密で詳細な連鎖地図を作成するために、RFLP マーカー等を利用した既報の連鎖地図と本研究で作成した連鎖地図との、STS マーカーの利用による統合を試みた。その結果、既報の連鎖地図における第 6 連鎖群上にある *CD657* 遺伝子（プローブ）の塩基配列からデザインされた *STS657* 遺伝子座が多型であり、この遺伝子座が本研究で作成した連鎖地図の第 1 連鎖群上に組み込まれることが分かったので、異なるマーカーによる両連鎖地図において前者の第 6 連鎖群が後者の第 1 連鎖群に相当することが明らかとなった。(3)スギにおける致死遺伝子の検出ならびに致死遺伝子を考慮した高密度連鎖地図の作成については、本研究による連鎖地図上では *Shd-1* や *6Pg-1* など 6 つのアイソザイム遺伝子座の近傍に、また RFLP マーカー等を利用した既報の連鎖地図上にも合計 12 座の致死遺伝子を検出した。そこで、これらの致死遺伝子を考慮して連鎖地図を作成したところ、致死遺伝子を考慮しない場合に比して地図距離が長くなり、より精密な高密度連鎖地図を作成できることを提示できた。

以上、本論文によって構築したスギにおける分子マーカー利用による致死遺伝子を考慮した高密度連鎖地図の作成に関する手法や基礎情報は、スギの交雑育種を実用化するうえで不可欠な育種年限の短縮法を確立するための大きな指針になるものと期待される。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、スギの交雑育種を実用化する目的で、(1)利用可能な分子マーカーの探索ならびに分子マーカーとアイソザイム遺伝子座や形質遺伝子座を利用した連鎖地図の作成、(2)唯一の既報の RFLP 等による連鎖地図 (Mukai et al. 1995) と本研究で作成した連鎖地図との統合、(3)遺伝子分析の際に各種マーカーや形質遺伝子の遺伝子型の分離に歪みを生じさせる致死遺伝子の検出と致死遺伝子を考慮した地図距離の修正について追求し、育種年限の短縮に必要な高密度連鎖地図の作成を試み、以下の有用な知見を得た。

(1)利用可能な分子マーカーとして RAPD マーカー 191 個と ISSR マーカー 94 個を特定して、149 座からなる 17 連鎖群で構成されスギのゲノム全域をカバーする総地図距離 2,814cM の連鎖地図を作成し、アイソザイム遺伝子座間に *Shd-1* : *Lap* (組換え価 $r=0.376$) など 7 対と、アイソザイム遺伝子座 *Shd-1* と矮性遺伝子座 *dw-1* 間 ($r=0.318$) に連鎖関係を見出した。(2)既報の連鎖地図の第 6 連鎖群上の *CD657* 遺伝子（プローブ）の塩基配列からデザインされた *STS657* 遺伝子座が多型であり、この遺伝子座が本研究で作成した連鎖地図の第 1 連鎖群上に組み込まれたので、前者の第 6 連鎖群と後者の第 1 連鎖群を統合できた。(3)本研究による連鎖地図上では *Shd-1* や *6Pg-1* など 6 つのアイソザイム遺伝子座の近傍に、また既報の連鎖地図上にも計 12 座の致死遺伝子を検出したので、致死遺伝子を考慮して連鎖地図を作成した結果、致死遺伝子を考慮しないと地図距離が短くなり精密性に欠けることが分かった。以上、本論文によって構築したスギにおける分子マーカー利用による致死遺伝子を考慮した高密度連鎖地図の作成に関する手法や基礎情報は、スギの交雑育種を実用化するうえで不可欠な育種年限の短縮法を確立するための大きな指針になるものと期待される。

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認める。