

| | |
|---------|---|
| 氏名(本籍) | マレズギ サレム (チュニジア) |
| 学位の種類 | 博士(理学) |
| 学位記番号 | 博甲第5963号 |
| 学位授与年月日 | 平成24年2月29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 | 生命環境科学研究科 |
| 学位論文題目 | Genetic and Physiological Analysis of Seed Dormancy in Rice (イネの種子休眠性に関する遺伝・生理学的研究) |

| | | | |
|----|------------|--------|------|
| 主査 | 筑波大学教授(連) | 農学博士 | 矢野昌裕 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 理学博士 | 白岩善博 |
| 副査 | 筑波大学准教授(連) | 博士(理学) | 井澤毅 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 農学博士 | 奥野員敏 |

論文の内容の要旨

種子休眠性は植物が環境に適応するための重要な戦略として位置づけられるばかりでなく、農業形質とも深く関わりがあり、降雨等により収穫前に発芽プロセスが進行してしまうことにより種子の品質が損なわれる穂発芽と呼ばれる現象を防ぐことにつながる重要な形質である。したがって種子休眠性の理解は作物の品種改良にも有用である。遺伝子レベルでの種子休眠性の研究はこれまでシロイヌナズナなどのモデル植物が主導的な役割を果たしてきたが、その解明はまだ不十分であった。イネは温帯域を中心とした広大な地域に分布し、その種内変異の幅も大きい。例えば種子の休眠性の場合、発芽率を指標とすると、全く発芽しない品種からほとんどすべての種子が発芽する品種まで、休眠性に大きな変異が認められる。イネにおける休眠性を制御する遺伝子の遺伝学的な同定は数多く報告されているが、遺伝子単離の報告は *Sdr4* の一例のみであり、単離を通じた種子休眠性の分子レベルでの理解を目指した研究はまだ端緒についたばかりであった。本研究では、種子の休眠性の遺伝的調節機構の理解に向けて、品種間に存在する変異を利用した遺伝・生理学的研究を行った。種子休眠性は数多くのプロセスからなるため、その制御に係わる遺伝子は数多く存在する(量的形質遺伝子座: QTL) ことが考えられ、品種同士の交配の直接の後代、例えば F2 集団を用いた遺伝解析では分子遺伝学的な研究につながらないために、従来から作出されていた部分的に供与親品種のゲノム断片に置換された染色体断片置換系統(CSSL)を利用した遺伝解析を行った。まず、日本稲のコシヒカリを反復親とし、休眠性の強いインド稲の Nona Bokra を供与親とした染色体断片置換系統を用い、休眠性に関与する QTL の検出に取り組んだ。その結果、第1染色体と第6染色体に QTL が存在することが示唆された。さらに、これら染色体断片置換系統にコシヒカリを戻し交配して得られた F2 系統を用いた QTL 解析により、種子休眠性に関与する遺伝子が、第1染色体短腕に1個(*Sdr6*)、第6染色体に2個(*Sdr9*と*Sdr10*)存在することを立証した。また、CSSLを準同質系統と見なした解析により、第1染色体の遺伝子座は発芽を抑制する植物ホルモンであるアブシジン酸(ABA)の蓄積レベルに関与するとともに、ABA生合成の鍵酵素となる OsNCED3 遺伝子の発現にも影響することが示唆された。一方、第6染色体をもつ染色体断片置換系統では発芽時の ABA 感受性が高まっていることが示された。

さらに異なる組み合わせの雑種後代による遺伝解析にも取り組んだ。休眠性が弱いササニシキを反復親と

し、休眠性の強いインド稲品種ハバタキを供与親として作成された戻し交雑固定系統群 (BILs) と CSSLs を用いた解析により 3 個の QTL が検出され、いずれもハバタキの対立遺伝子が休眠性を強める作用をもっていることが明らかとなった。その中で作用力が大きい第 1 染色体に座乗する QTL を *Sdr7* と命名し、その単離に取り組んだ。4,600 の F₂ 集団を用いた高精度連鎖解析の結果、*Sdr7* の候補ゲノム領域を限定した。さらにその領域のハバタキゲノムの配列を解析した結果、候補領域内にシロイヌナズナから単離された休眠性 QTL である *Delay of Germination 1* (*DOG1*) の同祖遺伝子が見出された。そこで、*DOG1* 同祖体を含むハバタキゲノム断片をササニシキに導入した結果、発芽を抑制することが示された。これにより *Sdr7* が *DOG1* 同祖体であることが明らかとなった。

これまでの種子休眠性の遺伝解析の多くは、統計的な手法による遺伝子座の存在の推定にとどまるものが多い中、本研究では、遺伝的背景がそろった CSSLs を利用したことにより遺伝子座の存在を明確に証明でき、さらにはそれらのうち *Sdr7* のマップベースクローニングが成功できたものと考えられる。これらの結果は、イネの種子休眠の理解を深める上での、重要な知見となると考えられる。

また、CSSL を利用することで、見いだした遺伝子座の ABA の合成やシグナル伝達への関わりを見いだすことができ、イネにおける種子休眠性と ABA の関係をより明確にする研究の足がかりにもなった。

今回遺伝子の特定に至った休眠性を強くする *Sdr7* の座乗する領域には多数の QTL の報告がなされている。*Sdr7* はシロイヌナズナの *DOG1* の同祖体であった。このことは、シロイヌナズナを含む双子葉植物の休眠性のみならず、単子葉そして作物であるイネにおいても *DOG1* 様の因子が機能すること明らかにしたことは植物の休眠性の理解を深める上での重要な結果であると考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

マレズギ サレム氏の博士論文の研究成果は、イネの種子休眠性の遺伝的制御機構の解明において、関与する量的形質遺伝子の存在を実験的に明確に証明するとともに、そのうちの一つの遺伝子 *Sdr7* の単離に成功したものである。これまでシロイヌナズナにおいては休眠性が無くなる突然変異を利用した研究が進められ、アブシジン酸 (ABA) の合成やシグナル伝達経路の遺伝子の理解は進んでいるが、それらの遺伝子の機能調節は、種子休眠性以外の様々な形質変化を同時に生じさせることから、品種改良のターゲットにはなじまなかった。イネの品種間に内在する種子休眠性には大きな変異があり、この変異を司る遺伝子の解析は、他の形質に影響を与えない、種子休眠に直接関与する遺伝子の解析につながることを期待されていた。マレズギ サレム氏の研究の結果は、遺伝子の単離による制御機構解明への貢献ばかりでなく、品種間変異の理解とその育種的利用を加速化する上で重要な成果と考えられる。

シロイヌナズナでは、自然集団のなかに種子休眠性の変異があるものの、その詳細な解析は進んでいない。イネでは、本研究において単離された *Sdr7* 以外にも、解析対象遺伝子として 4 つの QTL を同定している。これらの研究成果は、今後のイネの種子休眠性の遺伝的調節機構解明の端緒となると考えられ、イネにおける種子休眠性の理解は、コムギやオオムギなどをはじめとした植物の種子休眠性の理解に大きく貢献すると考えられる。

以上は、博士論文の研究全体を通じて、マレズギ サレム氏が連鎖解析や遺伝子単離について、精力的に実験に取り組んだことによる貴重な成果と考えられる。

平成 24 年 1 月 10 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (理学) 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。