



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## Evolutionary and Molecular Genetic Studies for Diversity of Waxy Mutation in Cereals

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山中, 慎介 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/2577">http://hdl.handle.net/20.500.12099/2577</a>

氏名(本国籍)	山中慎介(高知県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第236号
学位授与年月日	平成14年3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学位論文題目	Evolutionary and Molecular Genetic Studies for Diversity of Waxy Mutation in Cereals (禾穀物のモチ性突然変異の多様性に関する進化学的および分子遺伝学的研究)
審査委員会	主査 静岡大学 教授 中井弘和 副査 静岡大学 助教授 佐藤洋一郎 副査 岐阜大学 教授 古田喜彦 副査 信州大学 教授 南峰夫 副査 岐阜大学 教授 宮川修一

### 論文の内容の要旨

禾穀類の胚乳に含まれるデンプンにはウルチ性とモチ性が存在し、このモチ・ウルチ性は Waxy (Wx) 座の対立遺伝子により支配される。モチ性 (wx) はウルチ性 (Wx) の劣性突然変異により生じたと考えられている。イネ (*Oryza sativa*) においてもモチ・ウルチ性は表現型での古典的な遺伝マーカーとして古くから用いられ、ウルチイネについてはアミロース含量が食味に関わる重要な形質であることから成分育種の対象として研究が進められてきた。一方、モチイネに関しては、1960年代の渡部による先駆的な研究以来、体系的な研究成果は得られていない。第1章ではこうしたモチ・ウルチ性に関するこれまでの研究の背景についてのレビューを行っている。

第2章および第3章ではラオスおよびタイにおけるイネ遺伝資源の探索から得られたデータをもとにモチイネ栽培圏の現状について考察している。第2章ではラオス全土にわたる現地調査の結果をまとめてある。ラオスで大部分を占めるモチイネ系統も北部と南部では形態的特長が大きく異なっていたが、モチ・ウルチ性を支配する Waxy 遺伝子座の由来を dCAPS マーカーで調べたところ、99%が *japonica* タイプであった。この形態の多様性と Waxy 座の斉一性は

モチイネの起源が従来考えられていたほど単純ではない，すなわち単純に *japonica* のウルチから *japonica* のモチが出現し *indica* のウルチから *indica* のモチが成立したのではないことを示唆している．また，第3章に述べてあるタイ北部の焼畑地帯では，伝統的な陸稲在来品種が改良品種に置き換わり，また両者を同一または近接した畑で栽培することにより自然交雑が起こり，*indica-japonica* に関して核と葉緑体の置換系統が認められた．ラオスよりも近代化の進んだタイではこのように植物体レベルだけではなく遺伝子レベルでも遺伝的浸食が深刻であることを実証した．

第4章では，イネのモチ性突然変異に関する知見を得ることを目的に，世界各国のモチ性イネ品種・系統を用いて DNA レベルの検討を行った．その結果，遺伝子の構造領域に PCR 多型として検出されうる変異は認められず，トウモロコシの *wx* 遺伝子に存在するような数百～kb 単位の挿入・欠失といった大きな変異はイネの *wx* 遺伝子構造領域全般にわたり存在しないことが明らかになった．

第5章では栽培イネの祖先型野生種の同遺伝子座の解析により，同遺伝子が *Oryza* 属の進化を探るうえでの有効なマーカーになりうるかどうかについて検討した．栽培イネ *O. sativa* の *japonica* および *indica* それぞれの祖先と考えられる *O. rufipogon* (perennial type) および *O. nivara* (annual type) の遺伝子後半部を調べたところ，両者の間にレトロトランスポゾン p-SINE1-r2 の挿入の有無 (+-) による多型が認められ，*O. rufipogon* および *O. nivara* の両者をそれぞれ型および+型で大別できる傾向が認められた．さらにこの p-SINE1-r2 の挿入の有無は野生イネにおける DNA レベルでの *indica-japonica* 分化の方向とも非常によく一致していた．従来の研究では祖先型野生種には明瞭な *indica-japonica* 分化や p-SINE1-r2 多型は認められていなかった．本研究では perennial 系統 (*O. rufipogon*) をクローンで採集し栄養繁殖させたものを材料として用いたことで自生地における遺伝的背景をそのまま反映することができたと考えられ，種子を採集して種子増殖を繰り返した材料を用いた従来の研究とは異なった結果が得られたものと考察している．

第6章では，ウルチイネのアミロース含量に関わる複対立遺伝子  $Wx^a$  および  $Wx^b$  の相違が1塩基置換変異 ( $Wx^a$ : AG/GT,  $Wx^b$ : AG/TT) に起因することを利用して，モチ性 (*wx*) 遺伝子がこの両者のどちらに由来するのかを検討している．この「G-T 多型」が多数のモチイネ品種・系統でどのような分化を示すかを調べるためにこの部位の CAPS 化を試みた．この変異部位は制限酵素認識には関わらないために，新たな変異を導入し認識サイトを発生させる dCAPS (derived CAPS) 法を検討した結果，G-T 多型を検出する dCAPS マーカーを作成した．これを利用して世界各国のモチイネの G-T 多型を調べたところ，9系統だけが AGGT の配列を有しており，大部分が AGTT であることが明らかになった．ウルチイネでは AGGT タイプは *indica* に，AGTT タイプは *japonica* にそれぞれ対応するとされている．今回の結果よりモチにもこの2つのタイプが存

在するが、*indica-japonica* に関係なく AGTT タイプが主流であることが明らかになり、ウルチでの G-T 多型と *indica-japonica* 分化の対応から、モチ性突然変異は *japonica* 系統から派生したという結論が得られた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は禾穀類のモチ・ウルチ性、特にイネのモチ・ウルチ性を支配する Waxy 遺伝子に着目して進化や系統分化を考察したものである。モチイネに関しては、1960年代の Watabe による先駆的な研究以来、体系的な研究は行われていない。第1章ではモチ・ウルチ性に関するこれまでの研究の背景についてのレビューを行っている。

第2章および第3章ではラオスおよびタイにおけるイネ遺伝資源の探索をもとにモチイネ栽培圏の現状について考察している。第2章ではラオス全土で広く栽培されているモチイネも、Waxy 遺伝子座の由来を調べたところ、ほぼすべてが *japonica* タイプであったことを明らかにした。*indica-japonica* 分化とは独立にモチ性は *japonica* に由来するという結果は上述の Watabe の研究にはなかったものであり、非常に重要である。また、第3章では、タイにおける近年の改良品種の導入が在来品種に及ぼす影響について考察し、植物体レベルだけではなく遺伝子レベルでも遺伝的浸食が深刻であることを実証した。

第4章、第5章および第6章では、世界各国のモチイネならびに祖先型野生種を用いて Waxy 座の DNA 多型からイネの進化・系統分化を検討している。第4章では Waxy 遺伝子に大きな変異は認められず、モチ性は塩基配列レベルの微小な変異が原因である可能性を示唆している。第5章では野生イネの Waxy 座の解析を行い、レトロトランスポゾン p-SINE1-r2 の同遺伝子座への挿入の有無は野生イネにおける *indica-japonica* 分化の方向とも一致しているという、従来の研究とは異なる結果が得られた。この結果は、従来の野生イネのサンプリング方法や管理の問題点を指摘するものであり、自生地保全に取り組むうえでも考慮すべき問題であることを提起している。第6章では、ウルチイネの Waxy 座の複対立遺伝子  $Wx^a$  および  $Wx^b$  の相違が1塩基置換変異 ( $Wx^a$ : AGGT,  $Wx^b$ : AGTT) に起因することを利用して、モチ性 ( $wx$ ) 遺伝子がどちらに由来するのかを考察している。その結果、ラオス同様に世界各国のモチイネも AGTT タイプが主流であり、モチ性突然変異は *japonica* 系統から派生したという結論が得られた。世界中のモチイネを対象にした研究はこれまでに前例がなく、この結論はモチ性の起源を考えるうえで大きな意味をもつと考えられる。

第7章では以上の結果から、1) 遺伝資源の探索・評価および保全、2) Waxy 座の多型からみたイネの進化ならびに系統分化、3) 栽培植物の起源に関する考古学的なアプローチ、について総合的に考察を行っている。

本論文における研究は、遺伝資源の探索・収集から分子レベルでの評価までを幅広く網羅している。これまで研究対象とされてこなかったモチイネに焦点を置き、モチ性突然変異の進化的起源を初めて明らかにした点は特に高く評価される。また Waxy 座の多型が野生イネの系統分化を考えるうえで重要である

ことを提起したことも大いに注目される。さらにこれらの遺伝資源が失われつつある現状にもふれ、保全の重要性を詳細な実験によって実証的に示した意義も大きい。これらの知見は今後の国際的なイネ遺伝資源の持続的な利用ならびにそれらの保全活動に大きな貢献をすると考えられる。

本論文は、以上の観点から、岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと審査委員全員一致で認めた。

[基礎となる学術論文]

1. 山中慎介・岡田康博・中村郁郎・佐藤洋一郎。

植物遺体の DNA 多型解析手法の確立による縄文時代前期三内丸山遺跡のクリ栽培の可能性。考古学と自然科学 38 : 13-28 (2000)

2. Yamanaka, S., Fukuta, Y., Ishikawa, R., Nakamura, I., Sato, T. and Sato, Y.I.  
Phylogenetic origin of waxy rice cultivars in Laos based on recent observations for “Glutinous Rice Zone” and dCAPS marker of Waxy gene.  
TROPICS (in press)