

論文内容の要旨

申請者氏名 小西 左江子

野生イネは強い脱粒性を持ち、種子の成熟と共に自然脱粒する。この性質は、イネを作物として考えると大幅な収量減につながることから、脱粒性は栽培化の過程で最初に選抜の対象となった形質の1つであると考えられている。また、栽培化の過程でイネ品種の脱粒性の程度に応じてさまざまな脱穀システムが開発されており、今日でも農業上重要な形質の1つであると考えられる。本研究では、自然変異を利用したアプローチによりイネの脱粒性遺伝子を単離し、分子遺伝学的研究を行った。今回単離した遺伝子は、ジャポニカ品種の日本晴とインディカ品種のカサラスのF2を用いたQTL(Quantitative Trait Locus)解析により検出された5つのQTL座の中で第1染色体長腕上に見つかった最も作用力の大きなQTLである*qSH1* (*QTL of seed shattering on chromosome 1*) 遺伝子である。まず、*qSH1*のイネの脱粒性における生物学的機能を知るために、*qSH1*領域の準同質遺伝子系統(Near Isogenic Line, NIL)であるNIL(*qSH1*)を用いて、*qSH1*遺伝子がイネの籾の基部にできる離層(脱粒時に崩壊する層状の細胞群)の形成に必須な遺伝子であることを明らかにした。次に、約1万個体強からなる、*qSH1*表現型の分離集団を用いた高精度連鎖解析より、原因となるゲノムDNA領域を1塩基多型(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)として同定することができた。このSNP周辺には明確なORF(Open Reading Frame)を特定できなかったが、12kb離れた位置にシロイヌナズナのさやの離層形成に関与する*REPLUMLESS* (*RPL*)に相同性の高いORF (*Os-RPL*)を見出した。詳細な相補性試験の結果、完全な相補にはSNP領域と*Os-RPL*領域を含む長いDNA断片が必要であり、*in situ*解析の結果、*qSH1*はNIL(*qSH1*)でのみ籾の基部の離層形成部位特異的に発現をすることが分かった。これらの結果より、今回同定したSNPは離層部位特異的なシス配列として働き、12kb下流の脱粒性遺伝子を離層形成部位で発現させることで、離層の形成を行っていることが示唆された。次に、今回同定した*qSH1*のSNPの変異が、栽培化の過程で、いつ、どこで、どのように、生じたのかを推定するために、各種イネコレクションを用いて*qSH1*のアソシエーション解析を行った。その結果、温帯ジャポニカ(イネ亜種のサブグループ)内でのみ*qSH1*の原因SNPは機能型と機能欠損型がともに存在し、また、脱粒性との相関がみられたことから、今回同定した脱粒性遺伝子*qSH1*のSNPは温帯ジャポニカの脱粒性の喪失に関与していることが示唆された。さらに、脱粒性遺伝子*qSH1*のSNPの変異が生じた時期や地理的な場所を推定するために、中国の在来品種(温帯ジャポニカ)を用いて*qSH1*のアソシエーション解析を行った結果、中国の在来品種でも*qSH1*のSNPに機能型と機能欠損型が存在し、脱粒性と相関があることが分かった。ハプロタイプ解析の結果からは、このSNPがジャポニカの栽培化の初期に集団内に誘起された突然変異によることが示唆された。以上の結果と考古学的な知見から、今回同定した脱粒性の喪失の原因となった*qSH1*のSNPは、約3000年前から1万年前に中国で生じた変異であり、この変異を栽培化の過程で古代人が利用したと考えられる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 小西 左江子

本研究は、自然変異を利用したアプローチにより、ジャポニカ品種とインディカ品種の F2 を用いたイネ脱粒性に関する QTL 解析により第 1 染色体長腕上に検出された最も作用力の大きな QTL である *qSH1* (*QTL of seed shattering on chromosome 1*) 遺伝子に着目し、*qSH1* 遺伝子が籾の基部にできる離層形成に必須な遺伝子であることを明らかにし、約 1 万個体の分離個体を用いた高精度連鎖解析を行い、QTL の原因となる領域を 1 塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) として同定した。この SNP から 12kb 離れた位置にシロイヌナズナのさやの離層形成に関与する *REPLUMLESS* (*RPL*) に相同性の高い ORF が予測されたが、詳細な相補性試験の結果、完全な相補には SNP 領域と *Os-RPL* 領域を含む 20kb を超える長さの DNA 断片が必要であり、*in situ* 解析の結果、*qSH1* は NIL(*qSH1*) でのみ籾の基部の離層形成部位特異的に発現をすることから、今回同定した SNP は離層部位特異的なシス配列として働き、12kb 下流の脱粒性遺伝子を離層形成部位で発現させることで、離層の形成を行っていることを明らかとした。

さらに、*qSH1* 周辺のハプロタイプを使って、イネコアコレクションを用いたアソシエーション解析を行った結果、今回同定した *qSH1* の SNP の変異は、温帯ジャポニカの脱粒性の喪失に関与しており、ジャポニカの栽培化の初期に集団内に誘起された突然変異によることが示唆された。考古学的な知見とあわせて考えると、今回同定した脱粒性の喪失の原因となった *qSH1* の SNP は、約 3000 年前から 1 万年前に中国で生じた変異であることが推定できた。

作物の栽培化に関与した遺伝子が単離されたのは、これが、6 番目で、トウモロコシの形態に影響を与える *tb1*, *tga*, コムギの穂の密集化遺伝子である *Q*, そして、イネの食味 *Wx* とイネ脱粒性遺伝子 *sh4*, *qSH1* であり、*sh4* と *qSH1* は、今年、それぞれが、米サイエンス誌に掲載され、高い評価を受けている。栽培化は一万年という DNA の変加速度からすると非常に短い時間で起こった進化現象であり、人為選抜という強い選抜を受けた時に、生物がどう適応するのかという進化研究としても非常に興味深い分野であり、その端緒となる成果の一つといえる。また、進化的に約 2 億年離れた双子葉植物の鞘の離層形成 (イネ籾離層と解剖学的に異なる) に進化上の起源を同じくする遺伝子に関与するという発見は、植物の多様性を分子レベルで理解する上で、貴重な知見である。今回の難脱粒性の *qSH1* アリルのイネ育種への利用の可能性も忘れてはならない成果の一つである。加えて、1 万個体を超える連鎖解析や大きな DNA 断片を使った相補実験等、技術的にも非常に高度な解析を行っている。

以上のように、本論文はイネの栽培化に関与する脱粒性遺伝子を単離できた数少ない事例であり、脱粒性の喪失の原因となった変異が生じた時期や地理的な場所の推定、さらにイネの栽培化過程の推測を行っており、学術上、また、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。