

論文内容の要旨

申請者氏名 Lao Xintian

アブラナ科植物の自家不和合性はF₁ハイブリッド種子生産の現場で利用されている。強い自家不和合性を持つ2種類の近交系を隔離圃場で混合植栽すると、各々の近交系内では受精しないので、得られる種子はすべて近交系間で受精したF₁種子となる仕組みである。一方、親株として用いる近交系の確立・維持には、自家不和合性を打破する必要があり、植物体を密閉温室内で高濃度(4~5%)のCO₂ガスで処理する方法が古くから利用されてきている。この効率的な自家不和合性打破の手法は、東北大の日向らにより偶然見出されたが、何故CO₂処理により自家不和合性が打破されるのか、その機構は長らく不明であった。本研究では、自家不和合性の分子機構解明の一環として、このCO₂処理による自家不和合性打破の仕組みを明らかにすることを目的とした。

第1章では、自家不和合性 *Brassica rapa* の中で、CO₂処理により容易に自家不和合性が打破される感受性の近交系統と打破されにくい非感受性の近交系統に着目し、両系統とそれらの後代を生理的および遺伝的に比較解析した。まず、自家不和合性打破には、CO₂処理前に予め受粉させる必要があることを示し、何らかの受粉反応の進行が打破に必須であることを明らかにした。また、CO₂感受性は、雌ずい側で発現する遺伝子が規定すること、打破の際には、乳頭細胞からのCa²⁺の放出など和合受粉時に特異的な生理反応が誘導されることを示した。両系統間のF₁後代は、中間的なCO₂感受性を示すこと、F₂後代は多様なCO₂感受性株に分離することを示し、CO₂感受性が複数遺伝子座の量的形質により決定されていることを明らかにした。さらに、F₂後代110個体を対象に、両系統で多型を示す123の遺伝マーカーを用いてQTL解析を進め、染色体5番と3番に位置する2箇所のQTLが相加的にCO₂感受性を規定していることを明らかにした。両座位には、各々121および280の遺伝子が座乗することを示し、これらにCO₂感受性を規定する遺伝子が含まれる可能性を指摘した。

第2章では、自家不和合性遺伝子(*SP11*と*SRK*)を導入することにより自家不和合性を復活させた *Arabidopsis thaliana* C24株を用いてCO₂処理の効果を解析した。作出したC24株はCO₂処理により容易に自家不和合性が打破されるが、本株を *A. thaliana* Cvi-0株と交配させたF₁後代は、CO₂非感受性となることを発見した。F₁後代をC24株と戻し交配すると、CO₂感受性株と非感受性株が1:1に分離することを示し、CO₂非感受性がCvi-0由来の1優性遺伝子により規定されている可能性を明らかにした。

以上、2種類のアブラナ科植物を対象に、CO₂による自家不和合性打破の効果を解析し、CO₂感受性がいずれも遺伝的に規定されていることを明らかにした。本研究の成果は、自家不和合性の情報伝達系とその打破の機構解明に貢献すると共に、F₁採種において望まれているCO₂感受性親株の選抜法の開発等に結びつくことが期待される。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Lao Xintian

アブラナ科植物の自家不和合性における自他識別は、*S* 遺伝子座にコードされた花粉リガンド SP11 と雌ずい受容体キナーゼ SRK の相互作用を介して行われていることが明らかにされているが、自己花粉の吸水・発芽阻害に至る下流の情報伝達系はほとんど解明されていない。一方、この自家不和合性は、高濃度の CO₂ ガス処理により打破されることが古くから知られているが、この打破の機構も全く未解明である。本研究は、自家不和合性の打破を誘導する CO₂ の効果を生理学的、遺伝学的に解析することで、自家不和合性の機構解明に迫ろうとする独自性の高い研究である。

申請者は、まず強い自家不和合性を持つ *Brassica rapa* の近交系統の中にも、CO₂ 処理による自家不和合性打破に関して、高感受性のものと非感受性のものが存在することに着目し、両者を生理的、遺伝的に比較解析することにより打破の仕組みに関する手掛かりを複数取得した。特に、両系統の F₂ 後代を対象にした QTL 解析の成果は重要であり、自家不和合性打破における CO₂ 感受性が染色体 5 番と 3 番に位置する 2 遺伝子座により相加的に規定されていることが明確に示された。*B. rapa* は全ゲノム配列が決定されており、本研究による原因遺伝子座領域の特定は、CO₂ 感受性を規定する遺伝子の同定を加速することが期待される。また、*B. rapa* は、ハクサイ、カブ、コマツナなど重要なアブラナ科野菜類を多く含むが、市販されているこれら野菜の種子のほとんどが F₁ 種子である。F₁ 種子採種においては、強い自家不和合性を保持しつつも CO₂ により容易に自家不和合性が打破される高感受性株が親株として有益であり、その有効な選抜方法の開発が望まれている。本研究で同定された CO₂ 感受性を規定する遺伝子座情報は、この選抜方法の開発に直結しうる成果でもある。

さらに申請者は、自家不和合性を人為的に復活させた *Arabidopsis thaliana* を用いた系においても、Cvi-0 系統が優性の CO₂ 非感受性遺伝子を持つという重要な発見をした。最近、Cvi-0 株は、気孔の開閉においても CO₂ 非感受性であることが示唆されてきており (Monda K et al., 2011)、両機構に共通する仕組みの存在も期待される。*A. thaliana* は *B. rapa* に比べて形質転換実験などが遙かに容易なモデル植物であり、本成果は CO₂ 感受性に関する機構解析を加速することが期待される。

以上のように、本論文は 2 種類のアブラナ科植物を対象に自家不和合性に及ぼす CO₂ の効果を解析し、自家不和合性打破における CO₂ 感受性が遺伝的に規定されていることを初めて明確に示したものであり、学術上、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。