

(様式第3号)

## 学 位 論 文 要 旨

氏名: 石井 孝佳

題目: Molecular cytogenetic studies on chromosome elimination in subfamily cross of Triticeae or oat  
and pearl millet in early embryogenesis

(ムギ類とパールミレット亜科間交雑の初期胚における染色体脱落の分子細胞遺伝学的研究)

イネ科の遠縁交雑では、しばしば染色体脱落が発生する。そのため、コムギ育種において、トウモロコシやパールミレットの遺伝資源を利用できない。染色体脱落の分子的機構は多くの場合、明らかになっていない。もし、染色体脱落機構を明らかにし、制御する事が可能になれば、コムギ育種にトウモロコシやパールミレットや他の遠縁種の遺伝資源を利用する事ができるようになるであろう。そして、トウモロコシやパールミレットの形質をもつ新しいコムギ品種を開発することが可能になるかもしれない。本博士論文では、染色体脱落機構を理解する目的で、様々なゲノム構成をしたコムギ連、エンバク、そして、*Pennisetum* 属の植物を用いた。

第1章では、*Pennisetum* 属のゲノムサイズ、染色体の基本数、倍数性の多様性について研究した。私は、*P. orientale* (PoSat1)、*P. villosum* (PvSat1)、*P. setaceum* (PsSat1 and PsSat2) から縦列型反復配列を新規に獲得した。これらの配列は 152-192 bp の反復単位をもっており、配列間での相同性は無かった。これらの配列は、限られた *Pennisetum* 属の染色体のテロメア周辺領域に局在していた。PoSat1 は *P. orientale*、*P. flaccidum* に多量のコピー数が存在していた。そして、*P. villosum*、*P. setaceum* に少量のコピー数が存在していた。一方、他の種ではコピー数の増加は見られなかった。PvSat1、PsSat1、PsSat2 は種特異的であった。今回獲得した縦列型反復配列は染色体サイズの小さな種のみで見られた。さらに、*P. glaucum* から単離された動原体の縦列型反復配列についても *Pennisetum* 属内での存在を調べた。動原体反復配列は染色体の大きな種で、そのコピー数が増加していた。よって、*Pennisetum* 属は染色体の進化および、染色体脱落の研究に最適である事が明らかになった。コムギに *P. glaucum*(パールミレット)を交雑すると、徐々にパールミレットの染色体が脱落するので、染色体脱落の様子を比較的簡単に観察する事が可能である。

第2章では、コムギとパールミレットとの遠縁雑種の胚細胞での染色体挙動について研究した。パールミレットの花粉を様々なゲノム構成をしたコムギ連植物とエンバクに交雑した。交雑7日後の雑種胚内部でのパールミレット染色体の挙動を、パールミレットのゲノム DNA と動原体に対する FISH で観察した。その結果、エンバクと交雑した場合、雑種胚細胞中には7本全てのパールミレット染色体が存在していることが明らかになった。しかし、コムギ連植物との交雑では、パールミレットの染色体は脱落しており、パールミレットの染色体には染色体の切断、不分離、小核の形成が見られた。これらの、脱落してい

たパールミレットの染色体は、染色体橋、動原体をもたない染色体の腕部が後期に脱落していると考えられる。コムギとパールミレットの雑種胚細胞で発生する染色体脱落は動原体と紡錘糸の接着不全ではなく、後期細胞でのパールミレット染色体腕部の切断に起因している。

第3章では、エンバクとパールミレットの遠縁交雑について研究した。エンバクとパールミレットを交雑すると、胚発生の初期段階では染色体が脱落しない事が第2章より明らかになっていた。そこで、交雑14日後の170個の胚を培養したところ、その99個の胚は不完全な胚乳を伴っていた。21個の胚は発芽し茎葉が成長した。その内の1は根の成長もあった。そして、根の形成の無かった胚は芽が胚盤側に湾曲し、光に当てると全て致死の形質を表した。染色体の観察とPCRマーカーによる調査の結果、これらの植物は完全な雑種である事が明らかになった。根の成長のあった植物は半数体である事が明らかになった。半数体のエンバクは稔性のある植物体まで成長した。1個の胚は胚培養を開始して6ヶ月後にカルスを形成した。そして、このカルスは4本のパールミレットの染色体をもっており、これらは第2、4、6、7連鎖群であった。カルスは旺盛な成長をみせたが、根や芽への分化は示さなかった。

第4章では、イネ科の雑種における動原体ヒストンH3(CENH3)の動原体への取り込みについて研究した。コムギとパールミレットを交雑した場合、パールミレットの染色体は徐々に脱落し、最終的にはコムギの半数体になる。エンバクとパールミレットを交雑した場合、パールミレットの染色体は脱落しない。私はイネ科共通の動原体特異的ヒストンH3抗体(grassCENH3)と、パールミレット特異的抗体を用いて雑種胚中のパールミレットの染色体の挙動を観察した。さらに、FISH法を用いて極初期の雑種胚における、パールミレットの染色体の挙動を観察した。コムギとエンバクのCENH3はパールミレットの動原体上に局在し、機能的なキネトコアを形成していた。また、エンバクとパールミレットの雑種では、パールミレットのCENH3遺伝子が発現していた。しかし、雑種細胞ではエンバクのCENH3のみを使用している事が明らかになった。コムギとパールミレットの受精卵の第1回目の分裂では、機能的な動原体が形成されていた。しかし、第2回、第3回目の分裂では、パールミレットの染色体に激しい染色体異常が観察された。よって、コムギとパールミレットで発生する染色体脱落の原因は、CENH3の動原体上への局在の失敗ではない。

本博士論文で得た結果は、染色体脱落研究の一里塚となるであろう。