

# Comparative genetic studies on hybrid sterility in rice

(イネにおける雑種不稔の比較遺伝学的研究)

## 学位論文内容の要旨

交雑育種の根幹は、交雑によって遺伝変異を高めて新しい遺伝子組み合わせを選抜することである。交雑組み合わせによって性的親和性が異なるだけでなく、特定の遺伝子組み合わせの選抜の難易度が変化することが多く、その原因には性的不親和に関わる遺伝的分化が関連すると想像される。したがって、系統間の性的親和性を理解することは、作物の交雑育種を進める際に不可欠となる。イネにおける性的親和性の主要因は、雑種不稔現象である。高度の雑種不稔を引き起す遺伝子が種間や種内の交雑から見出されている。本研究の目的は、分化程度の異なる系統間で見出された2つの雑種不稔遺伝子の遺伝的基盤と分布パターンを比較することにより、雑種不稔現象の進化的起源を明らかにすることである。

第1章では本研究の背景を論じた。有性生殖を行う生物集団は、相互に利用可能な1次ジーンプールに含まれる遺伝子から組換えによって適応的セットを再構築することで、絶えず変動し続ける環境に対処している。一方において生物集団は1次ジーンプール内の遺伝的均一性を保持するために、分岐した集団からの遺伝子流入を妨げる内的な生殖隔離機構を有している。このような相反するメカニズムを通じて1次ジーンプールは形成・維持されていると考えられるが、その詳細は不明である。1次ジーンプールを維持する機構である内的な生殖隔離障壁は、系統間の性的親和性として見出される。系統間の性的親和性についてイネにおいても多くの研究が報告されてきたが、とりわけ雑種不稔現象は系統組み合わせによって異なる機構によって制御されており、その解析は容易ではなかった。しかしながらイネのゲノム情報が整備された現在、従来解析不能であったゲノムの微細な差異を比較することが可能になったと考えられる。

第2章では植物における内的な生殖隔離機構についてこれまでに報告された事例を概観した。植物の生殖隔離機構は接合前隔離と接合後隔離に大別される。接合後隔離は雑種致死・雑種不稔・雑種崩壊からなる。種分化が起こる時、何故、適応値を減少させる生殖隔離遺伝子が遺伝的に固定されるのかについては、長年にわたり生物学上の謎であった。遺伝的に固定される時に生じる遺伝的荷重を減じるには複数のモデルが提唱されている。イネでは種間だけでなく種内の品種間交配においても多様な雑種不稔遺伝子が報告されており、系統間の性的親和性を決定する主な要因であると考えられる。ジーンプールを共有する系統間と異なるジーンプールをもつ系統間の雑種不稔遺伝子を比較することは、生殖隔離現象の成立を考える上で興味もたれる。

第3章ではアジア栽培イネとアフリカ栽培イネの種間雑種不稔遺伝子  $S_1$  の解析を行った。アフリカ栽培

イネ *O. glaberrima* の 1 系統 W025 由来の  $S_1$  対立遺伝子はアジア栽培イネ *O. sativa* 由来の  $S_1^a$  対立遺伝子との異型接合体 ( $S_1/S_1^a$ ) において作用し、 $S_1^a$  を持つ雌雄両配偶体の致死を誘導する。その結果、 $S_1$  遺伝子は異型接合体の自殖後代において *sex-independent* Transmission Ratio Distortion (*siTRD*) を引き起こす。 $S_1$  遺伝子を連続戻し交雑により日本型イネの遺伝背景に導入した準同質遺伝子系統を用い、アジアイネおよびアフリカイネ 27 系統における  $S_1$  対立遺伝子の分布を調査したところ、 $S_1^a$  はアジアイネに特異的に分布しており、 $S_1$  はアフリカイネでのみ見出された。このことから種間雑種不稔遺伝子  $S_1$  はアジアイネとアフリカイネの種分化に関与した *Speciation gene* であると考えられた。 $S_1$  座の精密マッピングを行ったところ、 $S_1$  座は雄性配偶子の致死を引き起こす主動因子と雌性配偶子の致死に関与する修飾因子から成ることが明らかとなり、主動因子を 40kb の領域に絞り込んだ。当該領域周辺の候補遺伝子についてアジアイネおよびアフリカイネの塩基配列を決定し比較を行った。その結果、候補領域内の ORF においてアジアイネとアフリカイネの間で遺伝的分化が著しいことが明らかとなった。このことは  $S_1$  領域が両種間で進化的に長時間保持されてきた領域であることを示唆し、 $S_1$  遺伝子が種分化に関与したことを支持している。

第 4 章ではアジア栽培・野生イネ間で見出された雑種不稔遺伝子  $S_6$  の解析を行った。 $S_6$  は  $S_1$  と同様に *siTRD* を引き起こす雑種不稔遺伝子であり、第 6 染色体セントロメア近傍に存在することが明らかになっている。アジアイネ 25 系統における対立遺伝子の分布調査を行ったところ、 $S_6$  と  $S_6^a$  を保持する両系統と不稔を起こさない中立対立遺伝子  $S_6^b$  が野生・栽培イネに広く分布していることが示唆された。次に  $S_6$  遺伝子と  $S_6^b$  遺伝子の精密マッピングを行った。その結果  $S_6$  および  $S_6^b$  遺伝子は同じ領域に座乗することが明らかとなった。このことは  $S_6$  および  $S_6^b$  が  $S_6$  座の複対立遺伝子としてアジアイネ種内で分化していることを示唆している。また、当該領域における著しい組換え抑制のため、約 6Mb の領域が  $S_6$  座候補領域となりこれ以上の絞込みは困難であると考えられた。3 つの対立遺伝子の保持系統間で当該領域内の 5 つのマーカについて塩基配列の解析を行い、塩基多様度を比較した。 $S_6^b$  保持系統は高い多様度を示し、 $S_6$  と  $S_6^a$  は  $S_6^b$  から生じたことを示唆した。5 個のマーカ中、R111C では、 $S_6$  と  $S_6^a$  保持系統の塩基多様度が  $S_6^b$  保持系統に比べて著しく低く、R111C から距離が離れるにつれて塩基多様度が上昇する傾向を示した。このことは、雑種不稔を引き起こす  $S_6$  や  $S_6^a$  への変化が R111C 近傍に存在することを意味し、遺伝学的結果である複対立遺伝子の分化を支持した。セントロメア近傍では組換えが抑制されているものの、 $S_6$  遺伝子座の分化年代は古く、過去の組換えの蓄積によって候補領域を絞り込むことが可能となったと考えられる。

第 5 章ではイネ系統間で見られる多様な性的親和性の起源について考察した。本研究で詳細な解析が行われた 2 つの雑種不稔遺伝子と同様の領域に交雑親和性を決定する遺伝子が座乗することが明らかとなっている。このことは、交雑不親和性と雑種不稔性という異なる 2 つの性的親和性の分化に共通の遺伝子複合体が関与している可能性を示す。

以上のように、本研究では、イネの種間と種内で雑種不稔遺伝子の遺伝的基盤と遺伝的分化パターンを比較することができた。種内の遺伝的分化パターンは種分化への過渡期とみなされ、交雑組み合わせによって性的親和性が変化することを裏付けるものと考えられる。本研究から得られた結果は、最適な遺伝子セットを効率良く選抜する交雑育種を行うにあたって重要な知見を与えると期待される。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 佐 野 芳 雄

副 査 教 授 三 上 哲 夫

副 査 准教授 金 澤 章

学 位 論 文 題 名

## Comparative genetic studies on hybrid sterility in rice

(イネにおける雑種不稔の比較遺伝学的研究)

交雑育種は、遺伝変異を交雑によって拡大し、新しい遺伝子組み合わせを選抜する手法である。利用系統により選抜の成否が変化することが多く、その原因には性的不親和に関わる遺伝的分化が関連する。したがって、系統間の性的親和性を理解することは、育種の効率を高める際に不可欠となる。本研究の目的は、分化程度の異なる系統間で見出された 2 つの雑種不稔遺伝子の遺伝的基盤を比較することにより、雑種不稔現象の進化的起源を明らかにすることである。得られた結果は以下のように要約される。

1) 生殖隔離機構の生物学的意義について概説した。有性生殖を行う生物集団は、1 次ジーンプールに含まれる遺伝子群から組換えによって適応的セットを再構築し、変動する環境に対処してきた。一方、生物種の遺伝的均一性を保持するため、分岐した集団から遺伝子流入を妨げる生殖隔離機構が働く。生殖隔離は接合前隔離と接合後隔離に大別され、接合後隔離には雑種致死、雑種不稔、雑種崩壊が含まれる。種分化が起こる時、何故、適応値を減少させる遺伝子が種内に固定されるのかについては、長年にわたり生物学上の謎であった。種内に固定される時に生じる遺伝的荷重を減じるには複数のモデルが提唱されている。イネでは性的親和性について多くの研究が報告されており、ゲノム情報が整備された現在、イネは性的親和性を解析する上で優れた実験材料である。

2) アフリカ栽培イネ由来の  $S_1$  遺伝子は、異型接合体 ( $S_1/S_1^a$ ) において、アジア栽培イネ由来の  $S_1^a$  を持つ雌雄両配偶体のみを致死にする。その結果、 $S_1$  遺伝子は異型接合体の自殖後代において性非依存型 Transmission Ratio Distortion (siTRD) を引き起こす。アジアイネおよびアフリカイネ 27 系統における対立遺伝子の分布を調査したところ、 $S_1^a$  はアジアイネに特異的に分布しており、 $S_1$  はアフリカイネでのみ見出された。精密マッピングを行ったところ、 $S_1$  座は雄性配偶子の致死を引き起こす主動因子と雌性配偶子の致死に関与する修飾因子から成ることが明らかとなり、主動因子を 40kb の領域

に特定できた。候補遺伝子についてアジアイネおよびアフリカイネの塩基配列を決定し比較を行った結果、候補領域内の ORF においてアジアイネとアフリカイネの間で遺伝的分化が著しいことが分かった。このことは  $S_1$  領域が両種間で進化的に長時間種保持されてきた領域であることを示唆し、 $S_1$  遺伝子が種分化遺伝子 (Speciation gene) であることを示唆した。

3) アジア栽培・野生イネ間で見出された雑種不稔遺伝子  $S_6$  の解析を行った。 $S_6$  は  $S_1$  と同様に siTRD を引き起こす雑種不稔遺伝子であり、第 6 染色体セントロメア近傍に存在した。アジアイネ 25 系統における対立遺伝子の分布調査を行ったところ、 $S_6$  と  $S_6^a$  を保持する両系統と不稔を起こさない中立対立遺伝子  $S_6^b$  が野生・栽培イネに広く分布していた。次に精密マッピングを行ったところ、 $S_6$  遺伝子と  $S_6^b$  遺伝子を組換えることはできなかった。このことは  $S_6$  および  $S_6^a$  が  $S_6$  座の複対立遺伝子であることを示唆した。また、著しい組換え抑制のため、約 8 Mb の領域が  $S_6^a$  座候補領域となりこれ以上の絞込みは困難であると考えられた。さらに、候補領域内の 5 つの分子マーカーの塩基配列を 3 つの対立遺伝子の保持系統間で比較した。 $S_6^b$  保持系統は高い多様度を示し、 $S_6$  と  $S_6^a$  は  $S_6^b$  から生じたことを示唆した。5 個のマーカー中、R111C では、 $S_6$  と  $S_6^a$  保持系統の塩基多様度が  $S_6^b$  保持系統に比べて著しく低く、R111C から距離が離れるにつれて塩基多様度が上昇した。このことは、 $S_6$  と  $S_6^a$  が R111C 近傍に存在することを意味し、複対立遺伝子の分化を支持した。セントロメア近傍では組換えが抑制されているものの、複対立遺伝子座の分化年代は古く、過去の組換えの蓄積によって候補領域を絞り込むことが可能となったと考えられた。

4) イネ系統間で見られる多様な性的親和性の起源について考察した。本研究で解析された 2 つの雑種不稔遺伝子と同じ領域に交雑親和性を決定する遺伝子が座乗することが明らかとなった。このことは、交雑不親和性と雑種不稔性という異なる 2 つの性的親和性の分化に共通の遺伝子複合体が関与する可能性を示した。

以上のように、本研究では、雑種不稔遺伝子の遺伝的基盤と遺伝的分化パターンを種間と種内で比較することができた。種内の遺伝的パターンは種分化への過渡期とみなされ、交雑組み合わせによって性的親和性が変化することを裏付ける。本研究から得られた結果は、最適な遺伝子セットを効率良く選抜する交雑育種法に重要な知見を与えると期待される。よって、審査員一同は、小出 陽平が博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。