

## Genetic studies on lethal necrotic mutants in rice

ムバラカ, サイディ, ルマンチ

<https://hdl.handle.net/2324/1931960>

---

出版情報：九州大学, 2017, 博士（農学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : ムバラカ サイディ ルマンチ

論文題名 : Genetic studies on lethal necrotic mutants in rice (*Oryza sativa* L.)

(イネの致死性ネクロシス突然変異体に関する遺伝学的研究)

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

本研究では、イネの致死性ネクロシス突然変異体 18 系統を同定し、それらが単劣性の遺伝支配を受けることを見出した。それらのうち 5 系統について染色体上の座乗位置を特定し、その生理的特徴を明らかにした。さらに、致死性ネクロシス突然変異体 *nec1* のマップベースクローニングにより、原因遺伝子の特定を試みた。

まず、ガンマ線照射後代で得られた 18 系統のイネの致死性ネクロシス突然変異体系統について、各系統をヘテロ接合体により維持した。これらのうち、5 系統についてはそれぞれ突然変異体の原品種と異なる品種との交雑 F<sub>2</sub> 集団を用いて連鎖解析を行った。18 系統のイネの致死性ネクロシス突然変異体は、いずれも単劣性の遺伝様式を示したので、これらの遺伝子を、*necrotic lethality* (*nec1* - *nec18*) と命名した。これらのうち、SSR マーカーと InDel マーカーを用いて、*nec1*、*nec13*、*nec16*、*nec17*、*nec18* の詳細な座乗位置が特定された。*nec17* は染色体 2 の短腕に位置づけられ、また、*nec1* と *nec13* は染色体 2 の長腕に位置づけられ、交雑実験により同座であることが明らかになった。*nec16* と *nec18* は染色体 4 の長腕のそれぞれ異なるゲノム領域に位置づけられた。

次に、18 系統のイネの致死性ネクロシス突然変異体のうち、5 系統の致死性ネクロシス突然変異体については、DAB (3', 3'-diaminobenzidine) 染色法により幼苗における活性酸素量を推定し、トリファンブルー (trypan blue) 染色法により葉身ならびに葉鞘における細胞死を評価した。DAB 染色により、*nec1*、*nec13*、*nec16*、*nec17*、*nec18* 変異体の葉身全体が茶色に染色され、ネクロシス部分では活性酸素量が多いことが明らかとなった。さらに、*nec17* 変異体については幼苗の縦軸に沿ってゼブラ状に強く染色された。トリファンブルー染色については、DAB 染色と同様に、5 系統の葉身全体が青色に染色され、葉身ならびに葉鞘における細胞死が推察された。

最後に、致死性ネクロシス突然変異体 *nec1* のマップベースクローニングを行った。詳細な高精度連鎖解析の結果、原因遺伝子が染色体 2 の長腕上の CAPS マーカー QCAPS25 と QCAPS18 に挟まれた 0.72Mb に絞り込まれた。候補領域内のゲノム配列を野生型と突然変異型で比較した結果、フィロキノン (ビタミン K1) の生合成を担うシロイヌナズナ *PHYLL0* 遺伝子の相同遺伝子であるイネ *Os02g0581400* の第 2 イントロン 5' スプライス部位にのみ一塩基置換が見出され、これが *nec1* の有力な原因変異であると推測された。

以上のことから、本研究では、イネの致死性ネクロシス突然変異体に関する遺伝学的・生理学的特徴を明らかにするとともに、致死性ネクロシス突然変異体 *nec1* のマップベースクローニングに

より、本致死性ネクロシス突然変異の原因遺伝子の機能を推察した。