九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

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　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）
論文調査委員	主　査　　九州大学　　准教授　　安井　秀 副　査　　九州大学　　教　授　　吉村　淳 副　査　　九州大学　　教　授　　熊丸　敏博

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

トウモロコシやシロイヌナズナの致死性ネクロシス突然変異体は、植物の栄養欠乏症や環境ストレス応答に必須な遺伝子の同定に有用であると考えられるが、それら変異体の原因遺伝子が同定された研究は限られている。本研究では、イネの多数の致死性ネクロシス突然変異体を用いて、その遺伝的・生理的特徴を明らかにするとともに、その原因遺伝子の同定を目的とした。

まず、ガンマ線照射後代で得られた 18 系統のイネのネクロシス突然変異体は致死であるため、各変異体をヘテロ接合体で系統維持した。 これらのうち、5 系統についてはそれぞれ遺伝的背景が異なる 2 品種（‘ヒノヒカリ’および‘台中 65 号’）との交雑 F_2 集団を用いて連鎖解析を行った。18 系統のイネの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* と命名し、それぞれの劣性遺伝子座を *nec1 – nec18* とした。 18 系統中 5 系統 (*nec1*、*nec13*、*nec16*、*nec17*、*nec18*) については、SSR マーカーと InDel マーカーを用いた遺伝分析により詳細な座乗位置が特定された。 *nec1* と *nec13* は染色体 2 の長腕に位置づけられ、対立性検定により同座であることが明らかになった。一方、*nec17* は染色体 2 の短腕に、 *nec16* と *nec18* は染色体 4 の長腕のそれぞれ異なる場所に位置づけられた。

次に、5 系統のネクロシス突然変異体については、DAB (3’, 3’-diaminobenzedine) 染色法により幼苗における活性酸素量を推定し、トリパンブルー（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、全 5 系統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* については幼苗の葉脈に対して横縞（ゼブラ）状に強く染色された。トリパ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* の原因遺伝子の特定のために連鎖解析および全ゲノム配列の解読を行った。連鎖解析の結果、*nec1* は染色体 2 の長腕領域の 0.72Mb に絞り込まれた。候補領域内のゲノム配列を正常型と突然変異型で比較した結果、突然変異は *Os02g0581400* 遺伝子の第 2 イントロンのスプライシング供与部位に起こった 1 塩基置換 (G→A) のみであった。*Os02g0581400* 遺伝子はシロイヌナズナにおいてフィロキノン（ビタミン K1）の生合成を担う *PHYLLO* 遺伝子のイネオーソログであり、シロイヌナズナの *PHYLLO* ノックアウト株は幼苗致死の表現型を示す。これらの結果から、*Os02g0581400* 遺伝子における一塩基置換が、*nec1* 突然変異体の致死性ネクロシスの原因であることが強く示唆された。

以上要するに、本論文では、複数のイネ致死性ネクロシス突然変異体に関する遺伝的・生理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の一つである *nec1* の原因遺伝子を特定したものであり、植物遺伝育種学の発展に寄与する価値ある業績である。よって、本論文は博士（農学）の学位に値すると認める。