

## イネのアクロトリソミックスおよびセカンダリート リソミックスの同定

池田, 浩輔  
九州大学農学部育種学教室

安井, 秀  
九州大学農学部育種学教室

吉村, 淳  
九州大学農学部育種学教室

岩田, 伸夫  
九州大学農学部育種学教室

<https://doi.org/10.15017/23617>

---

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 53 (1/4), pp.1-12, 1999-02. 九州大学農学部  
バージョン :  
権利関係 :

## イネのアクロトリソミックス およびセカンダリートリソミックスの同定

池田 浩輔・安井 秀  
吉村 淳・岩田 伸夫

九州大学農学部育種学教室

(1998年10月30日受付, 1998年11月6日受理)

### Identification of Acrotrisomics and Secondary Trisomics of Rice

Kosuke IKEDA, Hideshi YASUI, Atsushi YOSHIMURA  
and Nobuo IWATA

Plant Breeding Laboratory, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University, Fukuoka 812-8581

#### 緒 言

イネ (*Oryza sativa* L.) の連鎖分析は、古くから形態形質、着色形質、生理形質等を標識マーカーに行なわれ (Nagao and Takahashi, 1963), 連鎖群の改廃や新連鎖群の発見を経て、現在、イネ ( $2n=24$ ) の12本の染色体それぞれに対応する連鎖群または標識遺伝子群が明らかにされている (Iwata, 1986). 一方、近年では分子生物学的手法が用いられ、DNA 断片長の多型すなわち RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) をマーカーとした連鎖分析が行なわれるようになり、密度の高い RFLP 連鎖地図が作成されている (McCouch *et al.*, 1988; Saito *et al.*, 1991; Causse *et al.*, 1994; Kurata *et al.*, 1994; Harushima *et al.*, 1998). さらに、従来の連鎖地図と RFLP 連鎖地図とを統合した連鎖地図の作成が試みられており (Ideta *et al.*, 1992, 1993, 1994; Kishimoto *et al.*, 1992; Yu *et al.*, 1995), 従来の連鎖地図と RFLP 連鎖地図との対応情報が徐々に蓄積している。

これらの連鎖地図に対して染色体地図は、染色体と連鎖地図の対応、連鎖地図における動原体の位置、遺伝子の染色体上における物理的位置などの情報が表されているもので、染色体地図作成には、相互転座系統、各種トリソミックス、欠失系統などの染色体変異体の

利用が必須であると考えられる。

イネの各種トリソミックスの中で、過剰染色体が正常な染色体であるプライマリートリソミックスについては、Iwata and Omura (1984) および Khush *et al.* (1984) がそれぞれ日本型イネとインド型イネにおいてプライマリートリソミックシリーズを完成して、遺伝子分析に精力的に活用し連鎖群と染色体との対応関係を明らかにした。その後、セカンダリートリソミックスとテロトリソミックスがプライマリートリソミックス後代から多数選抜・同定され (Singh *et al.*, 1996b), 連鎖地図上の動原体の位置の推定に利用されている (Singh *et al.*, 1996a; Harushima *et al.*, 1998). 一方、ターシャリートリソミックスについてはプライマリートリソミックスに相互転座系統を交配した後代から多数選抜され (Nonomura *et al.*, 1994), 遺伝子分析および染色体地図作成に貢献している (Nonomura *et al.*, 1997).

このように、イネのプライマリートリソミックス、セカンダリートリソミックス、テロトリソミックス、ターシャリートリソミックスについては、これまで多くの研究がなされてきたが、詳細な染色体地図の作成に有効と考えられるアクロトリソミックスに関しては、2, 3の報告事例があるのみであった (Ikeda *et al.*, 1992; Yasui and Iwata, 1992). そこで、池田ら (1999) はイネのプライマリートリソミックスの後代

Table 1. List of candidate plants for acrotrisomics and secondary trisomics.

Plant analyzed	Origin	Morphological features	Identification <sup>a)</sup>
90DTF <sub>1</sub> 1-12*	Triplo 4 ( <i>lg</i> )/Nipponbare ( $\gamma$ )**	Narrow grains	SC and RFLP
NT10 (M)	Triplo 4 (Nipponbare)	Narrow grains	SC, PC and RFLP
93Sho 1-3-29	Triplo 5 (Nipponbare)	Short in height, hairy glumes, round grains and short panicles	SC and RFLP
93Sho 1-4-6	Triplo 5 (Nipponbare)	Short in height, hairy glumes, round grains and short panicles	SC and RFLP
93Sho 1-4-34	Triplo 5 (Nipponbare)	Short in height, hairy glumes, round grains and short panicles	SC
95AcroTF <sub>1</sub> 6-3	NT 33-2 (M) / 94F <sub>5</sub> 67 ( <i>fc-2, spl</i> )	Awned spikelets, compact panicles	SC, PC and RFLP
NT 3 (M)	Triplo 6 (Nipponbare)	Awned spikelets and lax panicle	SC and PC
KT 31 (M)	Triplo 7 (Kinmaze)	Short in height, round grains, compact panicles and short culms	SC, PC and RFLP
90DTF <sub>1</sub> 41-16-5	Triplo 7 ( <i>gl</i> ) / Taichung 65 ( $\gamma$ )**	Short in height, round grains, compact panicles and short culms	SC and RFLP
93TCT12-16	Taichung 65 ( $\gamma$ )* **	Short in height, narrow grains and late flowering	SC and RFLP
92Fr 1-1	Triplo 11 (IR36)	Short in height	SC
NT 12 (M)	Triplo 11 (Nipponbare)	Short in height, narrow grains and late flowering	SC
93Pse 2-4-17	Triplo 11 (Nipponbare)	Short in height, narrow grains and late flowering	SC

\*; The plant showed pseudodominance for *lg*. \*\*; Irradiated pollen. \*\*\*; Selfed after irradiation. a); SC: somatic chromosome observation, PC: pachytene chromosome observation, RFLP: RFLP gene dosage analysis.

から主として形態的特徴に着目して、アクトトリソミックスおよびセカンダリートリソミックスの候補個体を多数選抜した。本研究では、それらの候補個体から10種類のアクトトリソミックスと3種類のセカンダリートリソミックスを同定したので報告する。

### 材料および方法

形態的特徴に基づいて選抜したアクトトリソミックス (Acrotrisomics; AT) ならびにセカンダリートリソミックス (Secondary trisomics; ST) の候補個体とその形態的特徴を Table 1 に示した。候補個体は、放射線照射花粉を花粉親としてプライマリートリソミックス (Primary trisomics; PT) に交配を行なって得られた F<sub>1</sub> から 2 個体, PT の後代から 10 個体, 放射線照射したダイソミックスの後代から 1 個体の計13個体であった。これらの候補個体について、

体細胞染色体の観察, 減数分裂太糸期染色体の観察, RFLP 遺伝子量分析を行なって, 過剰染色体の同定を進めた。また, 過剰染色体の同定に際して次代に出現するトリソミックスの種類を参考に示した。それぞれの候補個体の同定方法を Table 1 の右欄に示した。

体細胞染色体の観察には, 選抜個体の根端あるいは自殖種子の種子根を用いた。根端は, 20℃の1.5mM 8-オキシキノリンで1.5~2.0時間前処理し, 3:1メタノール酢酸で2~24時間固定後, 70%エタノール中に冷蔵保存した。染色体標本作製には, Kurata and Omura (1978) の酵素解離法を改良した方法を用いて酵素解離を行い, ギムザ染色後, 光学顕微鏡下で染色体観察を行なった。

減数分裂太糸期染色体の観察には, 減数分裂期の幼穂を採取し, 少量の塩化第二鉄を加えた3:1メタノール酢酸で固定し, 70%エタノールで5℃保存した後,

**Table 2.** RFLP clones used for RFLP gene dosage analysis of the candidates for acrotrisomics and secondary trisomics.

Chromosome	RFLP clones (Npb*)											
4	49	114	177	120	203	237	247	264	311	331	C891**	R288**
5	25	71	81	87	105	139	188	208	292	297	387	R830** R2232**
6	12	27	30	46	68-2	135	172	209	228	342	386	R2171**
7	20	22	33	117	338	358	R1440**					
9	13	36	47	103	108	400						
10	60	127	291	323	333							
11	44	52	111	115	169	179	189-1	202	257	274	389	C6** C950** G1465**

\*: RFLP clones from Saito *et al.* (1991), \*\*: RFLP clones from Kurata *et al.* (1994).

酢酸カーミン押しつぶし法により染色体標本を作製した。

RFLP 遺伝子量分析には、候補個体中 8 個体 (Table 1) とインド型品種「IR24」との交雑から得られた日印交雑 F<sub>1</sub> を供試した。まず、プローブには、Saito *et al.* (1991) と Kurata *et al.* (1994) が作成した両 RFLP 連鎖地図を統合した Tsunematsu *et al.* (1996) の RFLP 連鎖地図を参考にしてクローンを選抜し、そのうちで日印交雑 F<sub>1</sub> に用いた種子親 (日本型品種) と花粉親 (インド型品種「IR24」) との間で多型を示したクローンをを用いた (Table 2)。次に、供試イネから成葉を採取して液体窒素中で凍結保存した後、液体窒素中で粉碎し、臭化セチルトリメチルアンモニウム (CTAB) 法 (Murray and Thompson, 1980; Rogers and Bendich, 1988) により DNA を抽出した。抽出した DNA は 6 種類の制限酵素 (*Bam* HI, *Bgl* II, *Dra* I, *Eco* RI, *Eco* RV, *Hin* dIII) でそれぞれ消化し、断片 DNA を分画するために、0.8% アガロースゲルの各レーンに 3 μg~4 μg ずつ加え、電気泳動した。サザンプロットおよびハイブリダイゼーションは定法に従った。最後に、Young *et al.* (1987) および McCouch *et al.* (1988) の手法に従い、各 RFLP マーカー座において F<sub>1</sub> 個体が示す遺伝子量効果の相違からトリソミックスの過剰染色体の保有領域を推定した。

AT や ST では、断片染色体や同腕染色体を含んだ 3 価染色体の不均等分離の結果、完全な相同染色体を 1 本過剰にもつ n=13 の配偶子が形成され、次代には親と同型の AT や ST の他にプライマリートリソミックスが出現する。このような場合、断片染色体や同腕染色体は、出現した PT の過剰染色体と相同部分をもつと考えられるので、過剰染色体の同定に際しては候

補個体の次代に出現するプライマリートリソミックスの種類を参考にした (池田ら, 1999)。

本論文では AT を表す時に、Acro を当て、その後ろに過剰染色体の染色体番号を続けた。切断点がいずれの染色体腕にあるか明確な場合は、完全な染色体腕を先に記し、続けて切断点をもつ腕を上付き文字で示した。切断点がいずれの染色体腕にあるか不明な場合は過剰染色体の染色体番号のみを記し、系統が異なれば区別するために a, b, c, d を染色体番号の後に付記した。一方、ST の表記においては、過剰染色体である同腕染色体を表すため、Triplo 以下に染色体腕を並置して記した。

## 結 果

### 1. 過剰染色体の細胞学的同定

体細胞染色体の観察によって、供試した 13 個体の染色体数を決定した。NT 12 (M) と 93Pse 2-4-17 が 25 本の染色体に加え 1 本の断片染色体を保有していた (2n=26) が、他はすべて 2n=25 であった。体細胞染色体の核型分析の結果、NT 3 (M), KT 31 (M), 90DTF<sub>1</sub> 41-16-5 の 3 個体を除いた 10 個体の過剰染色体が断片染色体であることが確認された (Fig. 1)。さらに、減数分裂太糸期染色体の核型分析の結果、1 種類の AT (95AcroTF<sub>1</sub> 6-3) と 3 種類の ST (NT 10 (M), NT 3 (M), KT 31 (M)) の過剰染色体が同定された (Fig. 2)。供試した 13 個体の中で、90DTF<sub>1</sub> 41-16-5 は体細胞で断片染色体が確認されず、過剰染色体を細胞学的に同定することはできなかった。以下に、染色体番号の順に植物体の特徴と併せて個体ごとに記述する。

90DTF<sub>1</sub> 1-12 は、染色体 4 の長腕に座乗する無葉舌遺伝子 *lg* を三重複にもつ日本型品種の Triplo 4

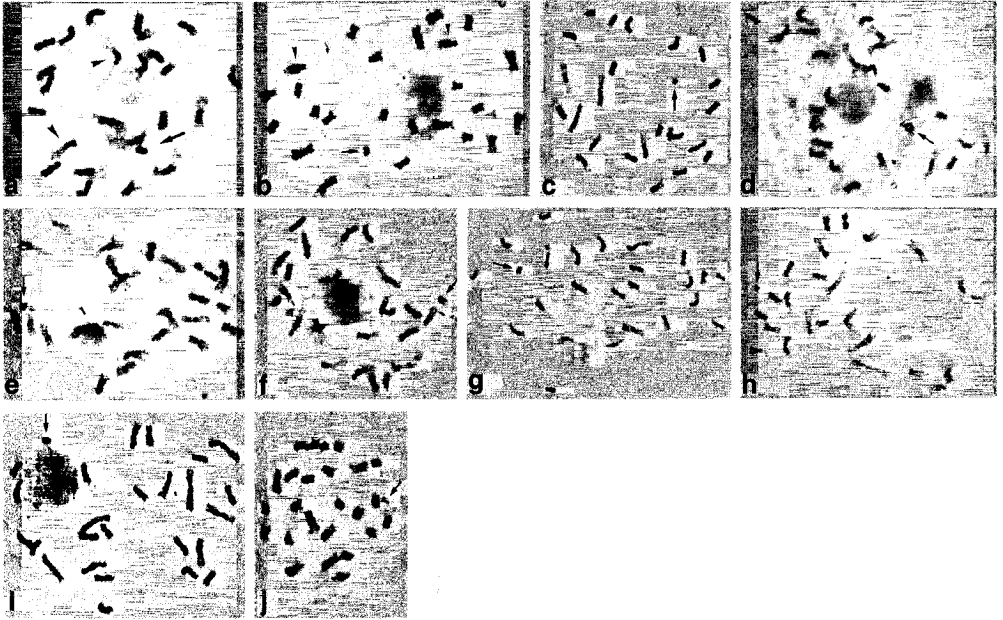


Fig. 1. Somatic chromosomes of 90DTF1 1-12 (Acro4S<sup>4L</sup>) (a), NT 10 (M) (Triplo 4S4S) (b), 93Sho 1-3-29 (Acro5a) (c), 93Sho 1-4-6 (Acro5b) (d), 93Sho 1-4-34 (Acro5c) (e), 95AcroTF1 6-3 (Acro6S<sup>6L</sup>) (f), 93TCT 12-16 (Acro11a) (g), 92Fr 1-1 (Acro11b) (h), NT 12 (M) (i), 93Pse 2-4-17 (j) at prometaphase. Arrows represent extra chromosomes, arrowheads indicate chromosome 4.

(lg) を種子親として、「日本晴」の放射線照射花粉を授粉して lg に関する偽優性個体を選抜することによって作出された F<sub>1</sub> 個体である。従って、過剰染色体に欠失があることがあらかじめ予測されており、体細胞染色体の核型分析の結果、過剰染色体は染色体 4 の短腕全域と長腕の濃染領域が残存して淡染領域が欠失していた (Fig. 1a)。このことから、90DTF<sub>1</sub> 1-12 を Acro4S<sup>4L</sup> と命名した。

NT 10 (M) は、Triplo 4 の自殖後代で細粒となった個体で、染色体 4 の濃染領域だけが残存する断片染色体を過剰に有していた (Fig. 1b)。太糸期染色体分析の結果、正常な染色体 4 を含む Y 字型の 3 価染色体が認められ、過剰染色体は短腕の同腕染色体であった (Fig. 2a, b)。このことから、NT 10 (M) を Triplo 4S4S と命名した。

93Sho 1-3-29, 93Sho 1-4-6 および 93Sho 1-4-34 は、Triplo 5 の自殖後代において Triplo 5 とダイソミックスの中間的な形態を示し、それぞれ断片染色体を 1 本ずつ過剰に有していた (Fig. 1c-e)。これらの 3 個体の自殖次代にいずれも少数の Triplo 5 が分離した

こと (池田ら, 1999) から、断片染色体は染色体 5 と相同部分をもつものと推定し、93Sho 1-3-29 を Acro 5a, 93Sho 1-4-6 を Acro5b, 93Sho 1-4-34 を Acro5c と仮名した。

95AcroTF<sub>1</sub> 6-3 は、密粒で有芒となり、1 本の断片染色体を過剰に有していた (Fig. 1f)。95AcroTF<sub>1</sub> 6-3 の自殖次代には少数の Triplo 6 が分離したこと (池田ら, 1999) から、この断片染色体は染色体 6 に由来すると推定した。さらに、太糸期染色体の観察から、正常な染色体 6 と断片染色体から形成された 3 価染色体が認められ (Fig. 2c, d)、この断片染色体では染色体 6 の短腕全域と長腕の一部が残存していた。このことから、95AcroTF<sub>1</sub> 6-3 を Acro6S<sup>6L</sup> と命名した。

NT 3 (M) は、Triplo 6 の自殖後代から選抜され、体細胞染色体の観察の結果、1 本の過剰染色体が認められた。太糸期には正常な染色体 6 と染色体 6 の長腕に関する同腕染色体を含む Y 字型の 3 価染色体が認められたので (Fig. 2e, f)、NT 3 (M) を Triplo 6L6L と命名した。

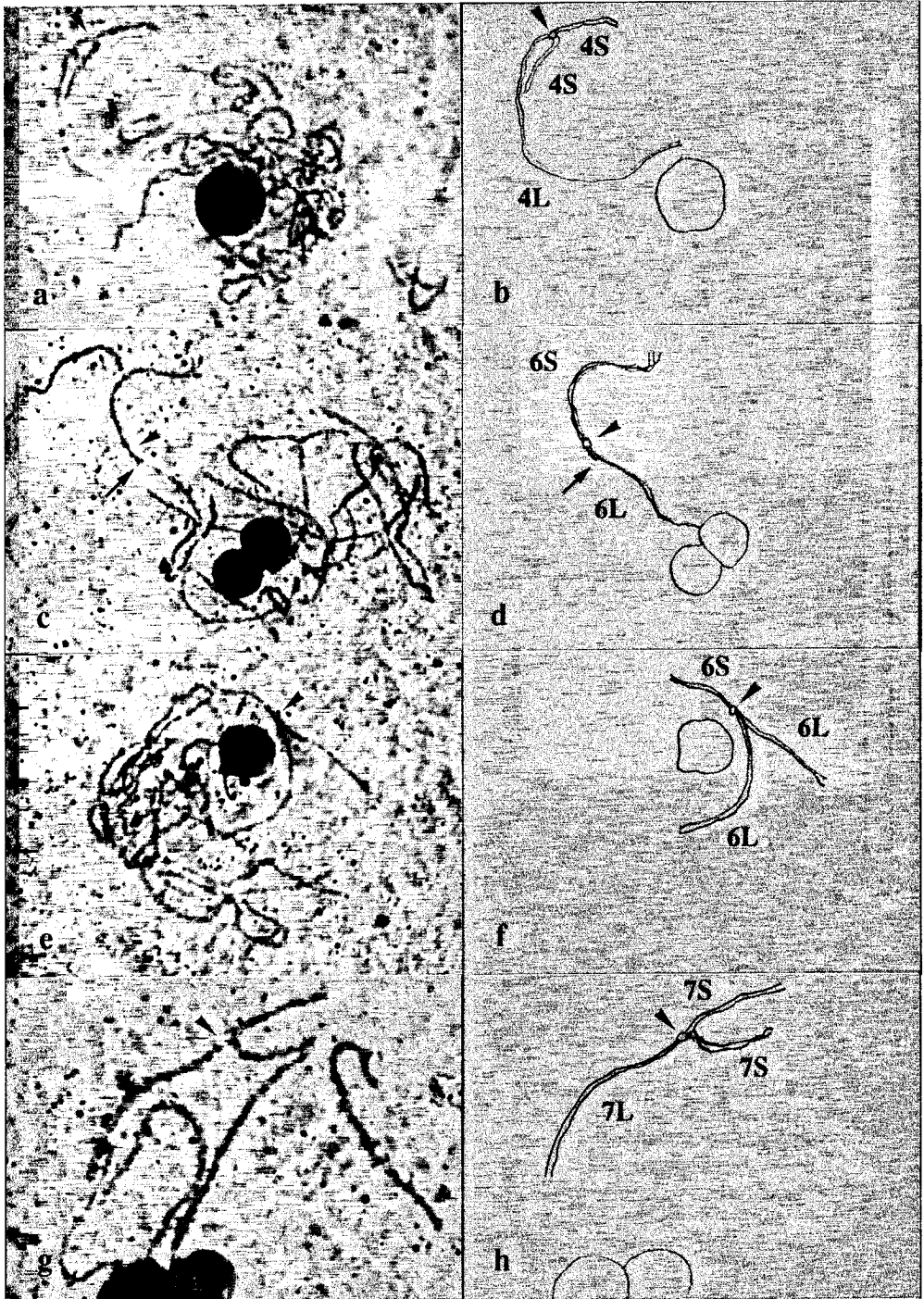


Fig. 2. Trivalent associations at pachytene in NT 10 (M) (Triplo 4S4S) (a and b), 95AcroTF1 6-3 (Acro6S<sup>6L</sup>) (c and d), NT 3 (M) (Triplo 6L6L) (e and f) and KT31 (M) (Triplo 7S7S) (g and h) of rice. Arrowheads indicate centromere and an arrow indicates break point of acrocentric chromosome. Numbers represent chromosome number. S and L represent short arm and long arm, respectively.

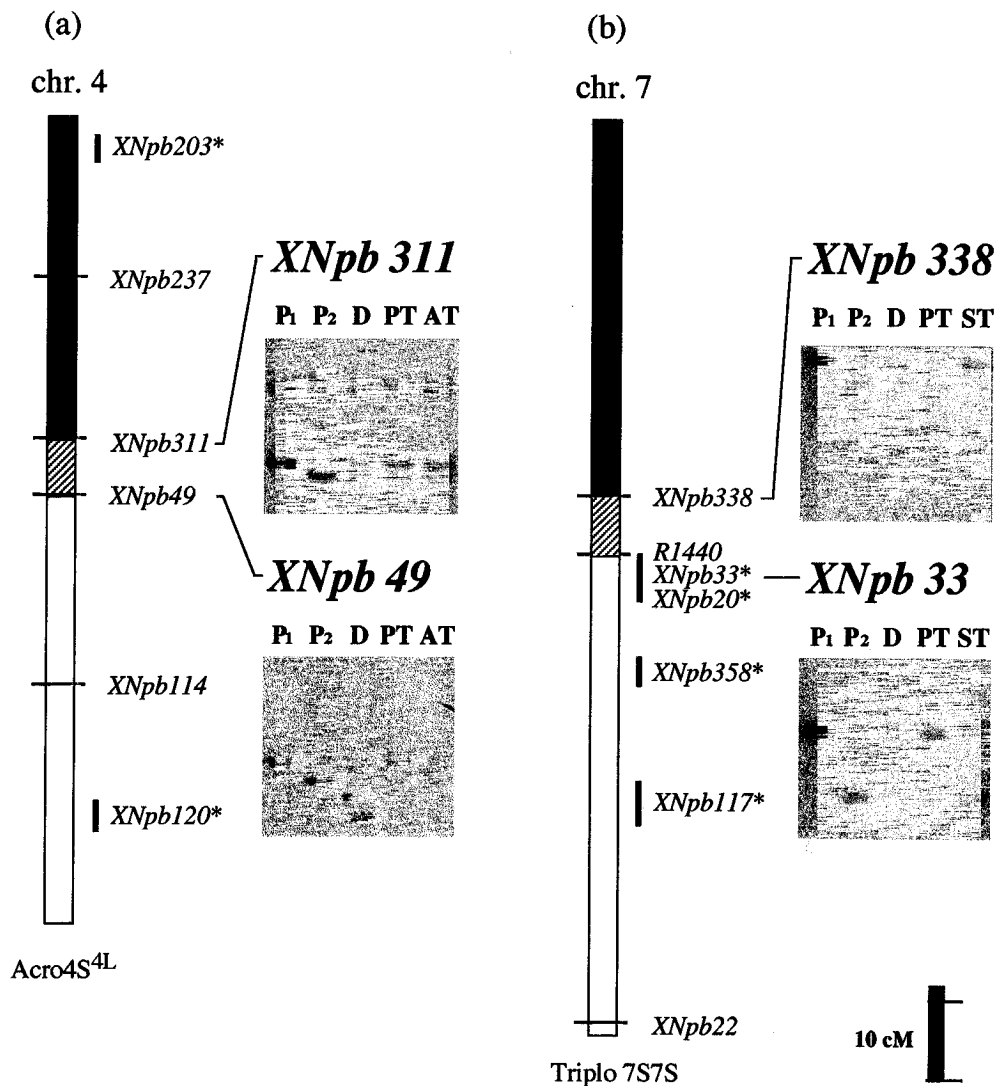


Fig. 3. RFLP gene dosage analyses of acrotrisomics, Acro4S<sup>4L</sup> (a) and secondary trisomics, Triplo 7S7S (b). RFLP linkage map by Tsunematsu *et al.* (1996) was used. In autoradiogram, P<sub>1</sub>: Japonica, P<sub>2</sub>: Indica, D: disomic F<sub>1</sub>, PT: primary trisomic F<sub>1</sub>, AT: acrotrisomic F<sub>1</sub>, ST: secondary trisomic F<sub>1</sub>. Black bar represents the extra chromosome segment and hatched bar indicates inferred region of breakpoint of acrocentric chromosome (a) and centromere of chromosome 7 (b).\*; RFLP clones were assigned to the putative region indicated by dotted lines.

KT 31 (M) は, Triplo 7 の自殖後代から選抜され, 短稈・短穂で丸粒であった。2n=25 の体細胞染色体像に加え, 太糸期では正常な染色体 7 と染色体 7 の短腕の同腕染色体を含む Y 字型の 3 価染色体が観

察されたので (Fig. 2g, h), ST であることが判明した。そこで, 断片染色体を保有することと, 染色体 7 に座乗する標識遺伝子のトリソミック分析の結果から KT 31 (M) を AT であると推測した Yasui and

Iwata (1992) の記述を改め、本系統を Triplo 7S7S と命名した。

93TCT 12-16は、「台中65号」のダイソミックスに放射線照射した自殖後代から選抜した系統で草丈がやや低く、出穂が遅く、やや細粒であった。体細胞染色体の観察の結果、1本の断片染色体を過剰に有していた (Fig. 1g)。さらに、自殖次代に Triplo 11が分離したこと (池田ら, 1999) から、93TCT 12-16の断片染色体は染色体11と相同部分をもつと推定されたので、93TCT 12-16を Acro11a と仮名した。

92Fr 1-1は、Triplo 11の自殖後代に見出された個体で草丈がやや低く、1本の断片染色体を過剰に有していた (Fig. 1h)。自殖次代に Triplo 11が分離したこと (池田ら, 1999) から、断片染色体は染色体11と相同部分を有すると推定されたので、92Fr 1-1を Acro11b と仮名した。

Triplo 11の自殖後代に出現した NT 12 (M) ならびに93Pse 2-4-17の体細胞の染色体観察を行なった結果、いずれも25本の正常な染色体と1本の断片染色体を有していた (Fig. 1i, j)。これらの後代にはそれぞれ断片染色体を1本過剰にもつと思われる異型個体が出現し、その個体はいずれもダイソミックスに比べて草丈が低く、出穂が遅くなり、やや細粒であった。これら異型個体の自殖次代においては、親と同型の異型個体と Triplo 11が出現した。このことから、異型個体の過剰染色体は染色体11と相同部分をもつと推定されたので、NT 12 (M) ならびに93Pse 2-4-17の後代に出現した異型個体をそれぞれ Acro11c, Acro11d と仮名した。

## 2. RFLP 遺伝子量効果による過剰染色体の同定

染色体観察の結果から推定した AT と ST のうち、Acro4S<sup>4L</sup> (90DTF<sub>1</sub> 1-12), Acro5a (93Sho 1-3-29), Acro5b (93Sho 1-4-6), Acro6S<sup>6L</sup> (95AcroTF<sub>1</sub> 6-3), Acro11a (93TCT 12-16), Triplo 4S4S (NT 10 (M)), Triplo 7S7S (KT 31 (M)) の8個体について、RFLP 遺伝子量分析により過剰染色体の RFLP 連鎖地図上での残存領域を特定した。さらに、染色体観察では過剰染色体を同定できなかった 90DTF<sub>1</sub> 41-16-5についても、RFLP 遺伝子量分析によって新たに過剰染色体が同定された。

Acro4S<sup>4L</sup> (90DTF<sub>1</sub> 1-12) における遺伝子量効果の検出結果を Fig. 3 (a) に示した。染色体4に座乗する6個の RFLP 遺伝子座において、ダイソミックスでは Acro4S<sup>4L</sup> (P<sub>1</sub>) に由来するバンドと IR24 (P<sub>2</sub>) に由来するバンドのシグナル比が1:1となり遺伝子

量効果が検出されないのに対して、PT ではシグナル比が2:1となり遺伝子量効果が検出された。一方、AT では XNpb203, 237, 311の各遺伝子座においてはシグナル比が2:1となるのに対して、XNpb49, 114, 120の各遺伝子座においてはシグナル比が1:1になり遺伝子量効果が検出されなかった。このことから、Acro4S<sup>4L</sup>の断片染色体は XNpb311側が過剰領域で XNpb49側が欠失領域であり、XNpb311と49の間の10.5 cMの領域に切断点が存在することが明らかになった。

次に Triplo 7S7S (KT 31 (M)) における遺伝子量効果の検出結果を Fig. 3 (b) に示した。染色体7に座乗する7個の RFLP 遺伝子座のうち、6個の RFLP 遺伝子座では遺伝子量効果が検出されなかったが、XNpb338においてのみシグナル比が3:1となる遺伝子量効果が検出された。このことは、Triplo 7S7Sの同腕染色体が XNpb338を含んでいることを示している。ST では、遺伝子量効果が検出された座位は、同腕染色体を形成する染色体腕上に存在し、遺伝子量効果が検出されなかった座位は他方の染色体腕上に座乗する。減数分裂太糸期分析の結果から、Triplo 7S7Sが短腕の同腕染色体を過剰に有していたので (Fig. 2g)、遺伝子量効果が検出された XNpb338側が短腕に、遺伝子量効果が検出されなかった R1440側が長腕に対応し、XNpb338と R1440の間の7.0 cMの領域に染色体7の動原体が存在することが示された。

同様に、その他のAT (Acro5a, Acro5b, Acro6S<sup>6L</sup>, Acro11a) と ST (Triplo 4S4S) の断片染色体の残存領域と欠失領域を特定して断片染色体の切断点もしくは動原体領域を推定した結果を Fig. 4 に示した。

Triplo 4S4S (NT 10 (M)) では染色体4の短腕の同腕染色体を過剰に有していること (Fig. 2a, b) から、R288と XNpb237の間の2.6cMの領域に染色体4の動原体が位置し、R288側が短腕に、XNpb237側が長腕に対応することが明らかとなった。Acro5a (93Sho 1-3-29) と Acro5b (93Sho 1-4-6) では、過剰染色体は染色体5の R2232側が過剰領域で、XNpb105側が欠失領域であり、過剰染色体の切断点は R2232と XNpb105の間に存在した。この結果と XNpb105が長腕にあること (野々村ら, 1994) から、Acro5a ならびに Acro5b の断片染色体は短腕側が残存しており、欠失領域は長腕の一部あるいは全領域であると判断された。Acro6S<sup>6L</sup> (95AcroTF<sub>1</sub> 6-3) では、過剰染色体の切断点は XNpb172と386の間に存



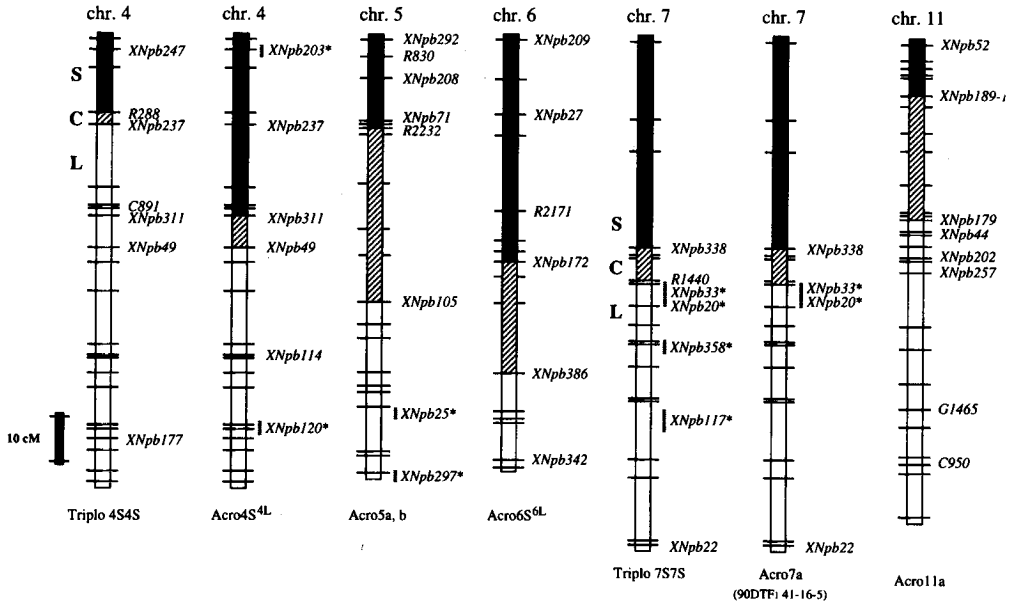


Fig. 4. Graphical constitutions of the extra chromosome of acrotrisomics and secondary trisomics on RFLP linkage map by Tsunematsu *et al.* (1996). Black bar represents the extra chromosomal segment and hatched bar indicates inferred region of breakpoint of the extra chromosome or centromere. Italic XNpb, C, G and R numbers indicate RFLP clones used in this analysis. S, C and L indicate short arm, centromere and long arm, respectively. \*; RFLP clones are from Saito *et al.* (1991), they were assigned to the putative region indicated by dotted lines.

在し、減数分裂太糸期分析の結果から過剰染色体の切断点が長腕にあることから、染色体6の *XNpb172* 側が過剰領域で *XNpb386*側が長腕の欠失領域であった。Acro11a (93TCT 12-16) では、*XNpb189-1*と *XNpb179*の間に断片染色体の切断点が存在し、染色体11の *XNpb189-1*側が過剰領域、*XNpb179*側が欠失領域であった。この結果と *XNpb 189-1*が短腕であること (Harushima *et al.*, 1998) から、Acro11aの断片染色体は短腕側を保有していると考えられた。最後に、90DTF<sub>1</sub> 41-16-5は、染色体7に座乗する長護穎遺伝子 *gl* を有する日本型品種の Triplo 7 (*gl*) に「台中65号」の放射線照射花粉を授粉して作出された F<sub>1</sub> 個体であり、*gl* に関して偽優性を示さないことから *gl* 座には欠失を生じていないものと推察された。しかしながら、トリソミックスでありながら、Triplo 7とは形態の特徴が異なり、短稈、短穂、丸粒であったことから、過剰染色体である染色体7に何らかの構造変異が生じているものと考えられた個体である。

RFLP 遺伝子量分析の結果、90DTF<sub>1</sub> 41-16-5の過剰染色体は染色体7の *XNpb338*側を過剰に有し、*XNpb 33*側を欠失していたことから過剰染色体の切断点は *XNpb338*と *33*の間に存在した。そこで、90DTF<sub>1</sub> 41-16-5を Acro7a と仮名した。Acro7a は切断領域が Triplo 7S7S と一致し、短腕上の RFLP マーカー遺伝子座では 3:1 のシグナル比に近い遺伝子量効果を示す一方、体細胞染色体の観察結果では、断片染色体や端部動原体型染色体が確認されなかった。このことから、Acro7a の過剰染色体は染色体7の短腕の同腕染色体である可能性が高いと思われた。

## 考 察

体細胞染色体、減数分裂太糸期染色体の解析ならびに RFLP 遺伝子量分析の結果から、10種類の AT (Acro4S<sup>4L</sup>, Acro5a, Acro5b, Acro5c, Acro6S<sup>6L</sup>, Acro7a, Acro11a, Acro11b, Acro11c, Acro11d) と 3 種類の ST (Triplo 4S4S, Triplo 6L6L,

**Table 3.** Acrotrisomics and secondary trisomics of rice identified by karyotype analysis and RFLP gene dosage analysis.

Trisomics <sup>a)</sup>	Plant selected	Related chromosome	The extra chromosome structure
Acro4S <sup>4L</sup>	90DTF <sub>1</sub> 1-12	4	Complete short arm and heterochromatic proximal region of long arm of chromosome 4
Acro5a	93Sho 1-3-29	5	Fragment chromosome including short arm of chromosome 5
Acro5b	93Sho 1-4-6	5	Fragment chromosome including short arm of chromosome 5
Acro5c	93Sho 1-4-34	5	Fragment chromosome for chromosome 5
Acro6S <sup>6L</sup>	95AcroTF <sub>1</sub> 6-3	6	Complete short arm and proximal region of long arm of chromosome 6
Acro7a	90DTF <sub>1</sub> 41-16-5	7	Isochromosome ? for short arm of chromosome 7
Acro11a	93TCT 12-16	11	Fragment chromosome involving short arm of chromosome 11
Acro11b	92Fr 1-1	11	Fragment chromosome for chromosome 11
Acro11c	NT 12 (M)*	11	Fragment chromosome for chromosome 11
Acro11d	93Pse 2-4-17**	11	Fragment chromosome for chromosome 11
Triplo 4S4S	NT 10 (M)	4	Isochromosome for short arm of chromosome 4
Triplo 6L6L	NT 3 (M)	6	Isochromosome for long arm of chromosome 6
Triplo 7S7S	KT 31 (M)	7	Isochromosome for short arm of chromosome 7

a); Acro means acrotrisomics and Triplo represents secondary trisomics. Chromosome number and arm of acrochromosome are indicated after Acro and those of isochromosome are shown after Triplo. S and L mean short and long arms, respectively. The superscript shows the fragmental arm of acrocentric chromosome. The small letters are tentatively added to show the difference of the origin. \*; the plant ( $2n=24+1$ fragment) originated in the progenies of NT 12 (M) was designated as Acro11c tentatively. \*\*; The plant ( $2n=24+1$ fragment) originated in the progenies of 93Pse 2-4-17 was designated as Acro11d tentatively.

Triplo 7S7S)を同定した (Table 3). 放射線照射を利用して得られた Acro4S<sup>4L</sup>と PT の自殖次代から見出された Acro6S<sup>6L</sup>については、断片染色体の切断部位が特定されており、イネで報告された初めての AT である。オオムギでは PT の自殖後代において AT が見出されており (Tsuchiya, 1960, 1971), イネにおいても PT の後代に染色体切断の結果として AT が生じることが確認された。また、Acro4S<sup>4L</sup>や Acro6S<sup>6L</sup>では、染色体腕に切断が起こった結果生じた断片染色体が数世代にわたって過剰染色体として安定に維持されていることが判明し、これらの AT は染色体切断機構の解明にとって有用な材料であると考

えられる。今回同定されたその他の 8 種類の AT については、減数分裂太糸期染色体の解析ならびに RFLP 遺伝子量分析を行なって過剰染色体の切断部位を明確にする必要がある。10種類の AT に加えて、1本の同腕染色体を過剰にもつ ST, すなわち日本型品種由来の PT から見出された染色体 4 の短腕の同腕染色体を有する Triplo 4S4S, 染色体 6 の長腕の同腕染色体を有する Triplo 6L6L, 染色体 7 の短腕の同腕染色体を有する Triplo 7S7S の 3 種類が同定された (Table 3)。既に、Singh *et al.* (1996a) はインド型品種「IR36」を遺伝的背景にもつ PT の自殖後代から 15種類の ST を同定しており、本研究で同

定した3種類のSTも15種類に含まれている。日本型品種の遺伝的背景においてもPTの自殖後代にSTが低頻度ながら出現することが明らかになったことから、今後は日本型品種のPTの後代を丹念に観察することにより、STシリーズの充実を図るべきである。

本研究で作出・同定したATの断片染色体やSTの同腕染色体が高頻度で次代に伝達し、種子稔性が高ければ、これらのATやSTを細胞遺伝学的研究に利用することができる。このような観点に立ち、池田ら(1999)は、ATの断片染色体やSTの同腕染色体の伝達率を調べ、高頻度で次世代に伝達することを明らかにしている。

## 摘 要

プライマリートリソミックス (Primary trisomics; PT) の後代ならびに放射線照射処理個体の後代から形態的特徴に基づいて13個体のアクトトリソミックス (Acrotrisomics; AT) ならびにセカンダリートリソミックス (Secondary trisomics; ST) 様個体を選抜し、体細胞染色体ならびに減数分裂太糸期染色体の核型分析、RFLP 遺伝子量分析を行なって、それらの過剰染色体を同定した。その結果、染色体4, 5, 6, 7, 11に関する計10種類のAT (Acro4S<sup>4L</sup>, Acro5a, Acro5b, Acro5c, Acro6S<sup>6L</sup>, Acro7a, Acro11a, Acro11b, Acro11c, Acro11d) と染色体4の短腕、染色体6の長腕、染色体7の短腕に関する3種類のST (Triplo 4S4S, Triplo 6L6L, Triplo 7S7S) が同定された。本研究で同定されたATならびにSTはイネの遺伝子マッピングや染色体地図の作成などの細胞遺伝学的研究に有用な系統と考えられた。

## 謝 辞

本論文の作成にあたり御校閲をいただいた九州大学農学部附属遺伝子資源開発研究センター 佐藤 光教授、伴野 豊 助教授に記して感謝の意を表します。

## 文 献

- Causse, M. A., T. M. Fulton, Y. G. Cho, S. N. Ahn, J. Chunwongse, K. Wu, J. Xiao, Z. Yu, P. C. Ronald, S. E. Harrington, G. Second, S. R. McCouch and S. D. Tanksley 1994 Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genetics*, **138**: 1251-1274
- Harushima, Y., M. Yano, A. Shomura, M. Sato, T. Shimano, Y. Kuboki, T. Yamamoto, S. Y. Lin, B. A. Antonio, A. Parco, H. Kajiya, N. Huang, K. Yamamoto, Y. Nagamura, N. Kurata, G. S. Khush and T. Sasaki 1998 A high-density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F<sub>2</sub> population. *Genetics*, **148**: 479-494
- Iwata, N. 1986 The relationship between cytologically identified chromosomes and linkage groups in rice. In "Rice genetics" IRRI, Manila, Philippines, 229-238
- Ideta, O., A. Yoshimura, T. Matsumoto, H. Tsunematsu and N. Iwata 1992 Integration of conventional and RFLP linkage maps in rice. I. Chromosomes 1, 2, 3 and 4. *Rice Genetics Newsletter*, **9**: 128-129
- Ideta, O., A. Yoshimura, T. Matsumoto, H. Tsunematsu, H. Satoh and N. Iwata 1993 Integration of conventional and RFLP linkage maps in rice, II. Chromosomes 6, 9, 10 and 11. *Rice Genetics Newsletter*, **10**: 87-89
- Ideta, O., A. Yoshimura, M. Ashikari and N. Iwata 1994 Integration of conventional and RFLP linkage maps in rice, III. Chromosomes 5, 7, 8 and 12. *Rice Genetics Newsletter*, **11**: 116-117
- Ikeda, K., H. Furuumi, A. Yoshimura, H. Yasui and N. Iwata 1992 Production and identification of acrotrisomics in rice. *Rice Genetics Newsletter*, **9**: 42-45
- 池田浩輔・安井 秀・吉村 淳・岩田伸夫 1999 イネのアクトトリソミックスとセカンダリートリソミックスの諸特性 九大農学芸誌, **53** (13-21)
- Iwata, N. and T. Omura 1984 Studies on the trisomics in rice plants (*Oryza sativa* L.) VI. Accomplishment of a trisomic series in japonica rice plants. *Jpn. J. Genet.*, **59**: 199-204
- Kishimoto, N., E. Shimosaka, S. Matsuura and A. Saito 1992 A current RFLP linkage map of rice: Alignment of the molecular map with the classical map. *Rice Genetics Newsletter*, **9**: 118-124
- Khush, G. S., R. J. Singh, S. C. Sur and A. L. Librojo 1984 Primary trisomics of rice: origin, morphology, cytology and use in linkage mapping. *Genetics*, **107**: 141-163
- Kurata, N. and T. Omura 1978 Karyotype analysis in rice. I. A new method for identifying all chromosome pairs. *Jpn. J. Genet.*, **53**: 251-255
- Kurata, N., Y. Nagamura, K. Yamamoto, Y. Harushima, N. Sue, J. Wu, B. A. Antonio, A. Shomura, T. Shimizu, S-Y. Lin,

- T. Inoue, A. Fukuda, T. Shimano, Y. Kuboki, T. Toyama, Y. Miyamoto, T. Kiriwara, K. Hayasaka, A. Miyao, L. Monna, H. S. Zhong, Y. Tamura, Z-X. Wang, T. Momma, Y. Umehara, M. Yano, T. Sasaki and Y. Minobe 1994 A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. *Nature Genetics*, 8: 365-372
- McCouch, S. R., G. Kochert, Z. H. Yu, Z. Y. Wang, G. S. Khush, W. R. Coffman and S. D. Tanksley 1988 Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet.*, 76: 815-829
- Murray, M. G. and W. F. Thompson 1980 Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl. Acids Res.*, 8: 4321-4325
- Nagao, S. and M. E. Takahashi 1963 Genetical studies on rice plant, XXVII. Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice. *J. Fac. Agr., Hokkaido Univ.*, 53: 72-130.
- 野々村賢一・吉村 淳・岸本直己・岩田伸夫 1994 イネのターシャリートリソミックスの作出とその利用 III. 染色体1, 3, 4, 5, 7, 9, 12におけるバキテン期染色体と連鎖地図の対応. 育種 44 (別1): 217
- Nonomura, K. I., A. Yoshimura, T. Kawasaki and N. Iwata 1994 Production of tertiary trisomics in rice (*Oryza sativa* L.). *Breed. Sci.*, 44: 137-142
- Nonomura, K. I., A. Yoshimura and N. Iwata 1997 Cytogenetical gene mapping by reciprocal translocation and tertiary trisomics analyses in rice (*Oryza sativa* L.). *Genes Genet. Syst.*, 72: 41-49
- Rogers, S. O. and A. J. Bendich 1988 Extraction of DNA from plant tissues. *Plant Molecular Biology Manual* A6: 1-10
- Saito, A., M. Yano, N. Kishimoto, M. Nakagahra, A. Yoshimura, K. Saito, S. Kuhara, Y. Ukai, M. Kawase, T. Nagamine, S. Yoshimura, O. Ideta, R. Ohsawa, Y. Hayano, N. Iwata and M. Sugiura 1991 Linkage map of restriction fragment length polymorphism loci in rice. *Japan. J. Breed.*, 41: 665-670
- Singh, K., T. Ishii, A. Parco, N. Huang, D. S. Brar and G. S. Khush 1996a Centromere mapping and orientation of the molecular linkage map of rice (*Oryza sativa* L.). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 93: 6163-6168
- Singh, K., D. S. Multani and G. S. Khush 1996b Secondary trisomics and telotrisomics of rice: origin, characterization, and use in determining the orientation of chromosome map. *Genetics*, 143: 517-529
- Tsuchiya, T. 1960 Cytogenetic studies of trisomics in barley. *Japan J. Bot.*, 17: 177-213
- Tsuchiya, T. 1971 Characteristics of telotrisomics and other aneuploids in barley. *Barley Genetics Newsletter*, 1: 58-60
- Tsunematsu, H., A. Yoshimura, Y. Harushima, Y. Nagamura, N. Kurata, M. Yano, T. Sasaki and N. Iwata 1996 RFLP framework map using recombinant inbred lines in rice. *Breed. Sci.*, 46: 279-284
- Yasui, H. and N. Iwata 1992 Acrotrisomics with chromosome 7 in rice. *Rice Genetics Newsletter*, 9: 45-47
- Young, N. D., J. C. Miller and S. D. Tanksley 1987 Rapid chromosomal assignment of multiple genomic clones in tomato using primary trisomics. *Nucl. Acids Res.*, 15: 9339-9348
- Yu, Z. H., S. R. McCouch, T. Kinoshita, S. Sato and S. D. Tanksley 1995 Association of morphological and RFLP markers in rice (*Oryza sativa* L.). *Genome*, 38: 566-574

## Summary

Ten acrotrisomics for chromosomes 4, 5, 6, 7 and 11 and three secondary trisomics for chromosomes 4S, 6L and 7S were identified by somatic chromosome analysis, pachytene analysis and RFLP gene dosage analysis. Ten kinds of acrotrisomics were designated as Acro4S<sup>4L</sup>, Acro5a, Acro5b, Acro5c, Acro6S<sup>6L</sup>, Acro7a, Acro11a, Acro11b, Acro11c and Acro11d, and three secondary trisomics were designated as Triplo 4S4S, Triplo 6L6L and Triplo 7S7S. The respective extra chromosomes of ten acrotrisomics and three secondary trisomics, were as follows: Acro4S<sup>4L</sup> has an acrocentric chromosome which

deleted light stained region of the long arm of chromosome 4; Acro5a, Acro5b, Acro5c contain an acrocentric chromosome with deleted segment or entire long arm of chromosome 5; Acro6S<sup>6L</sup> possesses an acrocentric chromosome with deleted segment of the long arm of chromosome 6; Acro7a keeps acrocentric chromosome with deleted segment or entire long arm of chromosome 7; Acro11a holds a fragment involving short arm of chromosome 11; Acro11b, Acro11c and Acro11d contain a fragment of chromosome 11; Triplo 4S4S possesses an isochromosome for short arm of chromosome 4; Triplo 6L6L has an isochromosome for long arm of chromosome 6; and Triplo 7S7S contains an isochromosome for short arm of chromosome 7. These acrotrisomics and secondary trisomics can be useful for cytogenetical studies in rice.