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

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:九州大學農學部學藝雜誌.53 (1/4), pp.1-12, 1999-02.九州大學農學部 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

> > -1-

緒

イネ (Orvza 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 して行なわれ (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

葍

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

対応情報が徐々に蓄積している.

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

池	田	浩	輔	6

		action secondary	<u> </u>
Plant analyzed	Origin	Morphological features	Identification ^{a)}
90DTF ₁ 1-12*	Triplo 4 $(lg)/Nipponbare (\gamma)^{**}$	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 ₁ 6-3	NT 33-2 (M) / 94F ₅ 67 (fc-2, spl)	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 ₁ 41-16-5	Triplo 7 (g1) / Taichung 65 (γ)**	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

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

*; 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 種類のアクロトリソミックスと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ロトリソミック 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_1 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,

2

Chromosome							RFLP	clon	es (N	[pb*])		
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**

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

*: 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 F₁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 F1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,液体窒素中で粉砕し,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 3µg~4µg ずつ加え, 電気泳動した. サザンブロッ 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 F₁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確な場 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), 90DTF1 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(95AcroTF₁ 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, 90DTF₁ 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.

90DTF₁ 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^{4L}) (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^{6L}) (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_1 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、90DTF₁ 1-12を Acro4S^{4L}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.

95AcroTF₁ 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). 95AcroTF₁ 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、95AcroTF₁ 6-3を Acro6S^{6L} 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^{6L}) (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, $Acro4S^{4L}$ (a) and secondary trisomics, Triplo 7S7S (b). RFLP linkage map by Tsunematsu *et al.* (1996) was used. In autoradiogram, P₁: Japonica, P₂: Indica, D: disomic F₁, PT: primary trisomic F₁, AT: acrotrisomic F₁, ST: secondary trisomic F₁. 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 Acrol1a 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 Acrol1b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 Acrollc, Acrolld 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^{4L} (90DTF1 1-12), Acro5a (93Sho 1-3-29), Acro5b (93Sho 1-4-6), Acro6S^{6L} (95AcroTF1 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 90DTF₁ 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^{4L} (90DTF₁ 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^{4L} (P_1) に由来するバンドと IR24 (P_2) 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^{4L}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, Acro6S⁶¹, 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^{6L} (95AcroTF₁ 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. Acrolla (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, Acrolla 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、90DTF₁41-16-5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 F1個体であり、g1 に関して偽優性を示さないこと からg1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とは形態的特徴が異なり、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,90DTF₁41-16-5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, 90DTF₁41-16-5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^{4L}, Acro5a, Acro5b, Acro5c, Acro6S^{6L}, Acro7a, Acro11a, Acro11b, Acro11c, Acro11d) と 3 種類の ST (Triplo 4S4S, Triplo 6L6L,

Trisomics ^{a)}	Plant selected	Related chromosome	The extra chromosome structure
Acro4S ^{4L}	90DTF ₁ 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 ^{6L}	95AcroTF ₁ 6-3	6	Complete short arm and proximal region of long arm of chromosome 6
Acro7a	90DTF ₁ 41-16-5	7	Isochromosome ? for short arm of chromosome 7
Acrolla	93TCT 12-16	11	Fragment chromosome involving short arm of chromosome 11
Acrol1b	92Fr 1-1	11	Fragment chromosome for chromosome 11
Acro11c	NT 12 (M)*	11	Fragment chromosome for chromosome 11
Acrol1d	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

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

a); Acro means acrotrisomics and Triplo represents secondary trisomics. Chromosome number and arm of acrochomosome 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) originated in the progenies of NT 12 (M) was designated as Acrollc tentatively. **; The plant (2n=24+1) originated in the progenies of 93Pse 2-4-17 was designated as Acrolld 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^{4L} と PT の自殖次代から 見出された Acro6S^{6L} 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^{4L} や Acro6S^{6L}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

9

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個体のアクロトリソミッ 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^{4L}, Acro5a, Acro5b, Acro5c, Acro6S^{6L}, Acro7a, Acrolla, Acrollb, Acrollc, Acrolld) 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_2 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, II. 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 ネのアクロ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. Kirihara, 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 るパキテン期染色体と連鎖地図の対応. 育雑 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^{4L}, Acro5a, Acro5b, Acro5c, Acro6S^{6L}, 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^{4L} has an acrocentric chromosome which

11

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^{6L} 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 an fragment involving short arm of chromosome 11; Acro11b, Acro11c and Acro11d contain an fragment of chromosome 11; Triplo 4S4S possesses an isochromosome for short 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.