

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 程 朝陽

イネ属の AA ゲノムを持つ種は、二つの栽培種 (*Oryza sativa* と *O. glaberrima*) と五つの野生種 (*O. rufipogon*, *O. barthii*, *O. glumaepatula*, *O. longistaminata* 及び *O. meridionalis*) に分けられる。これらの種間の系統関係の解明は、栽培稻の起源の推定だけではなく、野生稻の有用遺伝子の利用にも大変重要であるが、これまでの形態や生理的形質および各種の分子マークによる解析によっては決定的な結論は出されていない。イネの *waxy* 遺伝子内で見い出されたレトロポゾン *p-SINE1* は、RNA を中間体とし、逆転写を経てランダムにゲノムに挿入し、ふたたび切り出されることがないため、進化の研究の非常に良いマークと考えられる。本研究は、AA ゲノムを持つ栽培稻と野生稻から挿入の有無に関して多型を示す *p-SINE1* メンバーを数多く分離し、種内および種間の系統における挿入の有無のパターンから系統樹を作成することによって、*O. sativa* の起源を推定すると共に、AA ゲノムを持つ各種の系統関係を明らかにしたもので、四章からなる。

第一章でイネの分類と系統関係に関する研究の背景を概説した後、第二章で、栽培種 *O. sativa* の起源に関する解析結果を述べている。*O. sativa* は野生種の一つ *O. rufipogon* と最も近縁であるとされているが、これらの種の系統内で挿入の有無に関して多型を示す *p-SINE1* メンバーが 3 つ存在すること、それらが *p-SINE1* のコンセンサス配列と比較して異なる三カ所に共通の塩基置換変異を持つことが分かったので、各種 PCR 法を用いて *O. sativa* から挿入の多型を示す新たな *p-SINE1* メンバーを 19 個分離した。そこで、多型を示した全てのメンバーを用いて、*O. sativa* と *O. rufipogon* の合計 106 系統での有無を調べ、系統樹を作成した結果、*O. sativa* の系統はそれぞれインディカとジャボニカに対応する二つのグループに分けられること、また、インディカ系統は *O. rufipogon* の一年生の系統のグループに、ジャボニカ系統は *O. rufipogon* のいくつかの多年生の系統のグループの一つに属することが分かった。これらの結果から、インディカ系統は一年生の *O. rufipogon* の系統と、ジャボニカ系統は多年生の *O. rufipogon* の系統と祖先と同じにすると結論した。

第三章では、AA ゲノムを持つ種の系統関係の解析結果を述べている。AA ゲノムを持つ種の系統関係を調べるため、*O. rufipogon* 以外の四つの野生種から各種の系統において挿入の多型を示す 21 個のメンバーを分離した。これらと *O. sativa* で既に分離された野生稻各種の系統間で挿入の有無の多型を示す 14 個の *p-SINE1* メンバーを用いて、AA ゲノムを持つ全ての種の 72 系統における存在の有無を調べ、系統樹を作成した。その結果、五つの野生種の系統はそれぞれ独立のクラスターを成すが、*O. sativa* と *O. rufipogon*, *O. glaberrima* と *O. barthii* の系統はそれぞれ同一のクラスターを成すこと、*O. longistaminata* と *O. meridionalis* の系統は他の三つの野生種の系統とは遠い関係にあることが分かった。また、すべての遺伝子座に *p-*

SINE1 を持たない仮定上の祖先種を加えて系統樹を作成したところ、この仮定の祖先種は *O. longistaminata* と *O. meridionalis* に近いことが分かった。これらの結果から、AA ゲノムを持つ五つの野生種は独立に進化し、栽培種 *O. sativa* と *O. glaberrima* は *O. rufipogon* と *O. barthii* からそれぞれ由来したものであり、*O. longistaminata* と *O. meridionalis* は古い時期に分岐したものであると結論した。

第四章では、*O. glaberrima* に存在する *p-SINE1* の一メンバー r32 内で見い出された 418 bp の挿入配列について述べている。この配列はイネゲノムに高コピーで存在し、末端逆向き配列を持ち、9bp の標的配列を重複していることから、DNA 型転移性遺伝因子 (*Tnr8* と命名) と考えられた。*Tnr8* は、その末端逆向き配列に六つの 30 bp のタンデム 重複配列を含むという他のイネの DNA 型転移性遺伝因子にはない構造的特徴を持つことから、新規因子であると結論した。

以上、本論文はイネのレトロポゾン *p-SINE1* の挿入の有無により、栽培種 *O. sativa* の起源を明らかにし、AA ゲノムを持つ種の系統関係を明らかにすると共に、*p-SINE1* の一メンバー内に新規転移性遺伝因子が挿入していることを見い出したものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。