

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 上 原 奏 子

論 文 題 目

The molecular genetic study about awnedness of rice

(イネの芒に関する分子遺伝学的研究)

論文審査担当者

主 査	名古屋大学教授	芦 荻 基 行
委 員	名古屋大学教授	森 仁 志
委 員	名古屋大学教授	佐 塚 隆 志

人類は様々な野生植物を改良することで作物を栽培化してきた。具体的には、突然変異によって農業形質が向上した系統や不良形質が除去された系統を人為選択することによって、多数の有用な作物を作出してきた。芒（のぎ）は、イネ科植物の種子先端に見られる突起状の構造物で、動物の毛や衣服に付着し種子散布に役立つほか、草食動物による食害から種子を保護する役割をもち、生育地拡大に貢献している。しかし、この形質は現在の農業においては、播種や収穫時の妨げとなるため、アジアの栽培イネ *Oryza sativa* とアフリカの栽培イネ *O. glaberrima* の両種においては芒の無い表現型が選抜されてきた。これまでに、イネの芒に関する遺伝学的な解析は行われてきたが(Cai *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2011)、栽培化の過程でどのような遺伝子が選抜され、栽培イネが芒を失ったかについては明らかとなっていない。そこで上原奏子は、栽培イネの染色体背景に野生種及び近縁種の染色体断片を置換した複数の系統（CSSL: Chromosome Segment Substitution Lines）を用い、それらの表現型と遺伝子型を比較することによって芒形成に関わる遺伝子の迅速な同定に取り組んだ。

本研究の前半では、複数の CSSL を複数比較することにより明らかとなった、芒形成に関わる 3 つの遺伝子座を見いだした。無芒のコシヒカリ（*O. sativa*）染色体背景に有芒のアジアの野生イネ *O. rufipogon* と *O. nivara* をそれぞれ供与親とする CSSL を観察することによって、イネの第 4 染色体、第 8 染色体に芒形成遺伝子（それぞれ *Regulator of Awn Elongation 1* (*RAE1*)、*RAE2* と命名）が存在することが示された。一方、興味深いことに、コシヒカリに無芒のアフリカの栽培イネ *O. glaberrima* を交雑した系統においても、第 4 染色体、第 8 染色体の断片が置換した系統で芒が確認された。この結果は、*O. glaberrima* は芒形成に対して機能型の *RAE1*、*RAE2* を保持しているにも関わらず芒を消失した、すなわち *RAE1* 及び *RAE2* とは別の要因によって芒を消失したことを示唆している。*O. glaberrima* と *O. sativa* の交雑後代 BC₄F₂ を用いた解析から、*O. glaberrima* においては第 6 染色体上の *RAE3* が機能を喪失していることが明らかとなった。すなわち、アジアでは *RAE1* と *RAE2* が、アフリカでは *RAE3* がそれぞれ機能を喪失することにより無芒表現型を達成したと言える。このことは、イネは異なる土地で栽培化され、共に芒を喪失するという共通の表現型を示すが、その過程においてはそれぞれ異なる遺伝子の機能変化を選抜したことを示している。しかし、それら 3 つの遺伝子の相互関係や芒形成に関わる分子メカニズムは未だ明らかでない。

本研究の後半では、芒形成原因遺伝子の一つである *RAE2* を同定し、その分子機構を明らかにした。ファインマッピングにより *RAE2* はイネ第 8 染色体の長腕

領域に座乗しており、*OsEPFL1* をコードしていることが明らかとなった。EPFL は 100~200 アミノ酸残基からなる低分子ペプチドの一つであり、プロテアーゼの切断により成熟型となることで、膜局在性受容体キナーゼに受容されるリガンドとして働くことが知られている (Murphy *et al.*, 2012)。発現解析の結果、*RAE2* は穂で特異的に高い発現を示し、穂特異的に成熟型となることが明らかとなった。また、この穂特異的な切断を引き起こすプロテアーゼとして、*Subtilisin Like Protease 1* (*SLP1*) を見いだした。大腸菌で発現させたリコンビナント *RAE2* ペプチドとの混和および LC-MS を用いた解析により、*SLP1* が *RAE2* を切断するプロテアーゼであること、また、*RAE2* の 65 番目のアミノ酸(P)と 66 番目のアミノ酸 (S) 間で切断されることを明らかにした。

さらに、世界中の野生イネと栽培イネ、あわせて 130 種における *RAE2* の配列を比較した結果、第 2 エキソンへの塩基挿入に起因するフレームシフトにより、非機能型成熟ペプチドの配列に大きく 4 種のバリエーションがあることが示された。アジアのイネはすべてのタイプの *RAE2* を保持しており、栽培イネ *O. sativa* では非機能型 *RAE2* が人為的に選抜されているのに対し、アフリカのイネは野生種、栽培種ともに機能型 *RAE2* を保持していることが明らかとなった。このことは、アフリカでは *RAE1* と *RAE2* は機能を保持しているも *RAE3* が機能を消失することによって無芒形質を達成したという事実をより強く支持した。

以上のように上原奏子は、芒形成における分子メカニズムの一端を明らかにするとともに、アジアとアフリカでの独立したイネの栽培化過程で、芒の消失が独立した遺伝子の機能喪失によって起こったことを明らかにした。本審査委員会は、本論文の学術的価値を慎重に審査し、その結果、本論文を博士（農学）学位論文として十分な価値を有するものと認め、論文審査に合格と判定した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 第	号	氏 名	上原 奏子
試験担当者	主 査 芦 苺 基行、森仁志、佐塚隆志			
<p>(試験の結果の要旨)</p> <p>平成 29年 2月 8日学位審査委員会において、主論文の内容を中心</p> <p>としてこれに関連する科目の学識および研究能力について試問し審査した</p> <p>結果、合格と判定した。</p>				