

氏 名（国籍）	じょ 徐	しん 鑫（中 国）
学 位 の 種 類	博 士（生物資源工学）	
学 位 記 番 号	博 甲 第 4847 号	
学位授与年月日	平成 20 年 9 月 30 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当	
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科	
学 位 論 文 題 目	Genomic Studies of the Rice Blast Resistance Genes, <i>Pik-h</i> and <i>Pikahei-1(t)</i> (イネ・いもち耐病性遺伝子 (<i>Pik-h</i> と <i>Pikahei-1(t)</i>) の研究)	
主 査	筑波大学教授	理学博士 藤 村 達 人
副 査	筑波大学教授	工学博士 中 嶋 光 敏
副 査	筑波大学教授	農学博士 江 面 浩
副 査	筑波大学教授	Ph. D. 渡 邊 和 男
副 査	(独)農業生物資源研究所 上級研究員	理学博士 川 崎 信 二

論 文 の 内 容 の 要 旨

イネは世界の最も重要な食糧作物の一つである。いもち病はイネにとっては最も重篤な病気であり、子囊菌類の *Magnaporthe oryzae* によって引き起こされる。発生は頻発でその防除は現在は殺菌剤の撒布に主として依存している。一方で、宿主となるイネの植物側にも抵抗性 (R) 遺伝子が存在することが知られている。これを利用して罹病の可能性を減らすことも、有効で、経済的で、かつ、環境に対するインパクトの少ない方法である。さらには複数の抵抗性遺伝子を集積させることによって抵抗性をより強化し安定化させることも提案されている。このようなことを可能とするためには、抵抗性遺伝子の遺伝子座を明確にして、遺伝子マーカーを利用出来るようにすることや、抵抗性を作り出す遺伝子を単離し明らかにしてその機能を知ること、重要なことである。本研究ではいもち耐病性の遺伝子の座位をより詳細に調査し有効なマーカーを設定することを第一の目標として、最終的には抵抗性遺伝子を単離することを目標として研究を行った。

これらの研究を始めるに当たって、イネの染色体上の遺伝子の詳細な分析を迅速に経済的に行える実験系を開発した。第 1 章においては (1) イネの葉から迅速に DNA を抽出する方法を改良した。これにより 2 時間で 384 個のイネの葉から遺伝子解析が可能な量の DNA を抽出することが出来るようになった。また第 2 章では (2) HEGS/SSCP と呼ぶ電気泳動システムの改良を行った。これによってイネの SNP などのマーカーを効率良く低コストで分析することを可能とした。また、(3) いもちを効率良く発病させる培養ケースも開発した。この装置では再現性良くいもち病を発病させることが出来、さらには圃場抵抗性の遺伝子を有するイネをも評価することが可能となった。これらを用いていもち抵抗性遺伝子の詳細な遺伝子地図を作成することと遺伝子を単離することに注力した。

第 3 章ではいもち病真性抵抗性遺伝子の一つである広範ないもち菌に耐性を示す *Pik-h* 遺伝子に注目して研究を行った。*Pik-h* 遺伝子の解析に当たって耐病性の遺伝子を有する系統と罹病製の系統を交配して 3060 個の F3 集団を作成した。これらの耐病性を評価し、一方で SSR マーカーを利用してそれらの遺伝子型を解析した。遺伝子領域が 2cM の範囲に絞られた後は、SNP マーカーを新たに開発して更に領域を絞り込んだ。

その結果、当該遺伝子が 0.9cM の領域に存在すること、さらには、それが 11 番染色体のテロメア末端の 290kb の領域であることを明らかにした。この値は決して小さくはないが、これまでの報告例の中では最小の値で、精度の高い結果である。この遺伝子はちょうど 2 個の BAC の中にクローニングされている。これらの領域は交配による組換えが強く抑制されていた。

第 4 章では圃場抵抗性に関する遺伝子解析をおこなった。圃場抵抗性は真性抵抗性に比べて崩壊する可能性が低く、より持続的に有効な抵抗性遺伝子とされている。今回は Kahei 由来の遺伝子 (*Pikahei*) の解明を試みた。交配後代 2965 個体の F8 集団を利用して QTLs 解析を行ったところ、強力な QTL 座を見だし、それを第 4 染色体の長腕側の 350kb の領域に絞り込むことができた。この領域の配列情報を元に SSR マーカーを設定して絞り込みを試みたが、絞り込みを進めることはできなかった。これらの結果から、遺伝子領域のかかなり狭い範囲まで絞り込みを行うことができたが、遺伝子の同定を行えるほどの領域にまで絞り込むことが出来なかった。利用した集団の両親間で標的とされている領域での相同性が低い場合には組換え現象を利用した絞り込みは不可能である。今後は耐病性系統から DNA を取り出し BAC ライブラリーを構築して遺伝子の単離へと結びつけていく計画である。一方で、これらの単離の過程でより近接した遺伝子マーカーを開発してきた。これらはいもち抵抗性の遺伝子ピラミディングなどへの有効なマーカーとして利用することが出来る。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文の中で述べられている研究では、いもち抵抗性を付与する 2 個の遺伝子に関して詳細な遺伝子の座位に関する情報を得ることに成功した。また極近傍のマーカーも設定できた。これらは非常に労力のかかる研究であるがそれを成し遂げ、今後のいもち抵抗性の育種にとって有効な情報を提供している。また、この研究の課程で耐病性遺伝子の解析を再現性良く迅速に行える実験系を確立した。これも類似の研究を進めるに当たって有効性の高い情報であり、その学術的内容および農業利用の面で有用性が極めて高く、審査員が一致してその価値を認めた。

よって、著者は博士（生物資源工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。