

氏名	前田 哲
学位の種類	博 士 (生物工学)
学位記番号	博 甲 第 8 6 2 1 号
学位授与年月日	平成 3 0 年 3 月 2 3 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

Study on the Identification of a Disease Resistance Gene *BSRI* and Its Broad-Spectrum Resistance
(イネの病害抵抗性遺伝子 *BSRI* の単離とその広範な抵抗性に関する研究)

主査	筑波大学教授	Ph.D.	渡邊 和男
副査	筑波大学教授	農学博士	河瀬 眞琴
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	菊池 彰
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	山田 小須弥

論 文 の 要 旨

イネにおける耐病性品種を育成する上で、広範な病害抵抗性を有する遺伝子を利用することは極めて有用である。しかし、現在までにそのような複合病害抵抗性の原因となる遺伝子はほとんど単離されていない。

近年、Full-length cDNA Overexpression gene hunting system (FOXハンティングシステム)が開発された。FOXハンティングシステムを用いることにより、期待する機能をもつ遺伝子の探索が効率的に行える。筆者は、約13,000種類のイネの完全長cDNAsをCaMV 35S プロモーター下流に連結し、アグロバクテリウムを介してシロイヌナズナ(エコタイプColumbia)に導入することによりイネFOXシロイヌナズナ系統が作出した。シロイヌナズナは植物体のサイズが小さく、生活環が短いので、このシステムを用いることによって、高速かつ大規模に様々な機能の遺伝子をスクリーニングすることができる。特に、複雑な病原菌感染メカニズムに関連する病害抵抗性遺伝子のスクリーニングには有利である。本研究において、筆者は、イネFOXシロイヌナズナ系統を用いてイネの広範な病害抵抗性遺伝子のスクリーニングを行い、重要な遺伝子を単離し、単離した原因遺伝子の高発現イネで病害抵抗性の評価を行った。

最初に、筆者は、イネFOXシロイヌナズナ系統約2万系統を用いてシロイヌナズナの病原細菌*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (*Pst* DC3000)に対する感染抵抗性系統の選抜を行った。*Pst* DC3000のスクリーニングは3回行い、最終的に72系統を選抜した。19の候補遺伝子は、その原因遺伝子を有する別の独立したシロイヌナズナ系統、すなわちイネFOXシロイヌナズナ2万系統中の別系統や花序浸し形質転換法によりエコタイプColumbiaに原因cDNAを再導入した系統で*Pst* DC3000抵抗性を確認した。

次に、筆者は、複合抵抗性遺伝子を単離するために、72の*Pst* DC3000抵抗性系統について病原糸状菌*Colletotrichum higginsianum*に対する感染抵抗性を調べた。72系統のうち13系統は*C. higginsianum*感染抵抗性を示した。筆者、*Pst* DC3000抵抗性を付与した8個の原因cDNAをそれぞれイネに再導入して高発現イネを作出し、白葉枯病を引き起こす病原細菌*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*に対する抵抗性の評価をした。これらのうちの1系統は高度白葉枯病抵抗性を示した。さらにこの系統は、多くの国でイネの最重要病害となっているいもち病を引き起こす病原糸状菌*Pyricularia oryzae*に対しても顕著な高度抵抗性を示した。以上のことから、受容体様細胞内リン酸化酵素をコードするこの原因遺伝子をBROAD-SPECTRUM RESISTANCE 1 (*BSRI*) と筆者は、命名した。*BSRI*タンパク質はシロイヌナズナのBIK1タンパク質に類似していた。これらの結果は植物の防御遺伝子の同定のための1つのツールとしてイネFOXシロイヌナズナ系統を用いることは有効であることを示し、単子葉および双子葉植物に共通した防御機構の存在を筆者は示唆した。

さらに、筆者は*BSRI*の高発現 (*BSRI*-OX) イネが白葉枯病菌およびいもち病菌の別のレースや3つの他の病原体に対しても抵抗性を示すかどうかについて調べた。その結果、*BSRI*-OXイネは白葉枯病菌の他の2つのレースやいもち病菌の他のレースに対して少なくとも抵抗性を示した。また、*BSRI*-OXイネは籾枯細菌病を引き起こす病原細菌*Burkholderia glumae*およびごま葉枯病を引き起こす病原糸状菌

*Cochliobolus miyabeanus*に対しても抵抗性を示した。加えて、*BSRI*-OXイネは縞葉枯病ウイルスによって引き起こされる縞葉枯病に対してもやや抵抗性を示した。以上のように、*BSRI*-OXイネは少なくとも2つの重要な細菌病および2つの重要な糸状菌病に対して顕著で広範な病害抵抗性を示し、また1つのウイルス病に対してやや抵抗性を示すことを筆者は、明らかにした。

審 査 の 要 旨

新規の遺伝子を探索するために、多数のイネFOXシロイヌナズナ系統作出したことは、丁寧な実験とともに時間や労力を伴う事例を見ない努力である。これまでに知られている作物における病害抵抗性遺伝子群は、病原に非常に特異的であり、また往往にして細菌や菌類では、抵抗性が打破されることがある。これらを乗り越えるために、今回のFOX Hunting法の適用があったが、期待以上の効果のある遺伝子が獲得された。この成果は、単なる遺伝子探索の成功だけではなく、著者の独自発想により、定法を棄却し、あえて異なる病原について抵抗性を評価した発想にある。異なる病原種への複数抵抗性評価は、新規な検討事項である。これらを総じて異なる病原への画期的な複合抵抗性遺伝子を発見したこと及びそのアプローチは、筆者の独創性であり、高く評価できる。さらに、発見評価された*BSRI*についてイネだけではなく、他の作物種への利用も可能であり、作物育種での幅広い応用が期待され、生命産業科学分野としての成果が大きいと考えられる。

平成30年1月16日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。