

氏名	GUO FENG
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	博甲第9079号
学位授与年月日	平成31年 3月25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	Molecular Mechanism of Clomazone Resistance in <i>Oryza sativa</i> and <i>Echinochloa phyllopogon</i> (イネおよびタイヌビエにおけるクロマゾン抵抗性の分子機構)
主査	筑波大学 教授 農学博士 松本 宏
副査	筑波大学 教授 博士(農学) 臼井 健郎
副査	筑波大学 教授 博士(理学) 田中 俊之
副査	筑波大学 准教授 博士(農学) 春原 由香里

論 文 の 要 旨

除草剤クロマゾンは、植物体内で5-ケトクロマゾンに変換され、葉緑体内におけるカロテノイドなどの前駆体を作るMEP(非メバロン酸)経路の初発反応を触媒するデオキシリブローズ-5-リン酸合成酵素(DXS)を阻害するが、他の除草剤とは異なる独特の作用のため、米国では近年多発している除草剤抵抗性雑草防除に用いられている。しかし、イネの中粒種と短粒種はクロマゾン感受性のため、イネでのクロマゾンの利用は長粒種に限られている。最近、多剤抵抗性タイヌビエ由来シトクロムP450遺伝子がシロイヌナズナにクロマゾン抵抗性を付与したことから、イネにおいてもこのオルソログ遺伝子が亜種間での耐性差異に関与していると考えられたが、この機構については未解明な点が多い。

著者はイネ品種間でのクロマゾン感受性の違いを分子レベルで明らかにするため、第一章において、イネのシトクロムP450遺伝子を調査した。さらに、短粒米と長粒米のゲノムリソースを用いてクロマゾン抵抗性遺伝子の染色体座乗位置を絞り込んだ。クロマゾンは1 μ Mの濃度でジャポニカであるニッポンバレとコシヒカリを白化させたが、インディカのカサラスの生育には影響はなく、その耐性レベルは約5倍の差があった。ニッポンバレとカサラスの雑種第一代(F1)は1 μ Mのクロマゾンに感受性であった。F2世代のクロマゾン抵抗性分離比から、カサラスのクロマゾン抵抗性に関与する遺伝子は複数の位置に座乗していることが示唆された。カサラス由来のCYP81A6遺伝子を導入した遺伝子組換えシロイヌナズナは、野生型と比較してクロマゾン感受性が低下した。しかし、カサラスのCYP81A6をノックアウトしても野生型とクロマゾン感受性は変化しなかった。これらのことから、CYP81A6はカサラスにおけるクロマゾン抵抗性の重要な因子ではないと考えられた。ニッポンバレ/カサラス染色体断片置換系統群(CSSLs)のうち、第5染色体の同じ場所に置換を持ついくつかの系統がクロマゾン抵抗性を示したことから、この染色体上にクロマゾン抵抗性遺伝子の1つが座乗していることが示唆された。さらに座乗位置を絞りこむことで、クロマゾン抵抗性遺伝子の同定につながると考えられた。

一方、水田の強害雑草であるタイヌビエの除草剤抵抗性集団が米国カリフォルニア州のサクラメントで発見された。この抵抗性植物はアセト乳酸合成酵素（ALS）阻害剤やクロマゾンを含む複数の作用機構の除草剤に対して交差抵抗性を示す。先行研究で、2つのP450遺伝子（CYP81A12とCYP81A21）の高発現がALS阻害剤抵抗性に関与することが明らかにされた。しかし、本植物におけるクロマゾン抵抗性機構は未だ明らかにされていない。そこで著者は、第二章においてタイヌビエのクロマゾン抵抗性機構の解明を試みた。

タイヌビエの感受性集団と抵抗性集団の交雑後代F6系統において、クロマゾン抵抗性とALS阻害剤抵抗性が共分離した。CYP81A12またはCYP81A21を導入した遺伝子組換えシロイヌナズナはクロマゾンとその活性本体である5-ケトクロマゾンに対する抵抗性を示した。この結果は抵抗性タイヌビエと同様の結果であった。さらに、2つのCYP81A遺伝子はクロマゾン処理によって発現誘導された。これらの結果から、抵抗性タイヌビエのクロマゾン耐性に2つのCYP81Aが関与していると考えられた。さらにタイヌビエの他のCYP81Aの機能解析をした結果、CYP81A15とCYP81A24を導入したシロイヌナズナはクロマゾンとALS阻害剤に抵抗性を示した。特にCYP81A24はクロマゾン処理によって発現誘導された。以上のことから、植物におけるCYP81Aサブファミリーの除草剤代謝における重要性が示された。

審 査 の 要 旨

クロマゾンに対しイネのインディカ型は抵抗性、日本型は感受性を示すが、この亜種間での違いの要因は明らかとなっていない。また、クロマゾンはその特異な作用機構から、米国において除草剤抵抗性雑草の防除に用いられているが、近年、タイヌビエで抵抗性系統が見つかったことが問題となっている。本研究において著者は、イネ品種間におけるクロマゾン耐性の違いおよびタイヌビエのクロマゾン抵抗性の分子メカニズムの解明に挑戦した。イネにおけるクロマゾン抵抗性遺伝子の同定までは至らなかったが、クロマゾン抵抗性遺伝子の染色体での座乗位置に関する情報と、異なるP450がクロマゾンから5-ケトクロマゾンへの転換および5-ケトクロマゾンからの解毒反応に関与している可能性を示したことが評価された。一方、タイヌビエにおけるクロマゾン抵抗性機構研究においては、CYP81Aサブファミリーの重要性を明らかにしており、抵抗性系統の今後の管理につながる重要な基礎的知見となるものと高く評価された。

平成 31 年 1 月 18 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（ 農学 ）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。