

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	岩上哲史
論文題目	Molecular mechanism of resistance in a multiple-herbicide resistant <i>Echinochloa phyllopogon</i> (多除草剤抵抗性タイヌビエにおける抵抗性の分子機構)		
(論文内容の要旨)			
<p>タイヌビエは水田の代表的な強害雑草であり、米国カリフォルニア州で複数の除草剤に抵抗性を示す多剤抵抗性型が発見されている。このタイヌビエでは、他の多くの雑草と異なり、ALS阻害型除草剤やACCase阻害型除草剤に対する抵抗性が非作用点抵抗性であると推定されている。特にシトクロムP450 (P450) による除草剤代謝活性の向上がその抵抗性機構として強く示唆されている。しかし、その分子機構も含めて抵抗性の機構に関する知見は非常に乏しい。本論文は、多除草剤抵抗性タイヌビエにおける抵抗性の分子機構を明らかにしたものであり、以下のように要約される。</p> <p>1. 作用点抵抗性の可能性を検証するためにタイヌビエのALS遺伝子およびACCase遺伝子を解析した。ALS遺伝子については2種、ACCase遺伝子については4種単離し、その塩基配列を抵抗性系統 (R系統) と野生型系統 (S系統) とで比較したところ、系統間に塩基多型は存在しなかった。本結果から本抵抗性機構が作用点抵抗性によらないことを分子レベルで明らかにした。</p> <p>2. 非作用点抵抗性の機構を解明するため、3種類のALS阻害型除草剤 (ベンスルフロメチル (BSM)、ペノキススラム (PX)、ビスピリバック (BS)) への抵抗性に関与するP450の同定を試みた。イネにおいてCYP81AサブファミリーのP450がBSM抵抗性に関与していることに着目し、タイヌビエのCYP81AサブファミリーのP450遺伝子を単離・解析した。その結果、2種類のP450遺伝子CYP81A12およびCYP81A21がR系統で恒常的に高発現すること、両遺伝子ともBSを除く2種類のALS阻害剤に対する抵抗性をシロイヌナズナに付与すること、タイヌビエのS系統とR系統との交雑後代F<sub>2</sub>では両遺伝子の高発現がともに2種類のALS阻害剤抵抗性と共分離することが明らかとなった。またF<sub>2</sub>世代では、これらの除草剤抵抗性はともに3:1に分離し、抵抗性形質は1遺伝子支配と考えられた。さらにCYP81A12およびCYP81A21には連鎖関係が認められないことから、これらの遺伝子は異なる染色体に座上することが示唆された。これらから、タイヌビエのBSMおよびPX抵抗性には2つのP450の高発現が強く関与し、その高発現は2つの遺伝子を同時に制御する単一のトランス因子によって制御されていることを明らかにした。一方で、BS抵抗性にはこれらと異なるP450が関与することを示した。</p> <p>3. BS抵抗性に関与するP450遺伝子を同定することを試みた。先行研究ではBS処理によってBSを代謝するP450が誘導され、その代謝活性がR系統において顕著に高いことが報告されていた。そこでR系統においてBS誘導的なP450遺伝子を探索し、R系統で誘導性を示すP450遺伝子を7種同定した。さらにS系統との比較でCYP71AK2とCYP72A254がR系統で特に強く転写されていることを明らかにした。このことから、これら2つの遺伝子がBS抵抗性に関与する候補と考えられた。</p> <p>以上の研究から、これまで報告例がほとんどなかった多除草剤抵抗性タイヌビエにおける抵抗性の分子機構の一部が明らかとなった。今後、これらの成果は、水田の代表的な強害雑草タイヌビエを含めた多くの除草剤抵抗性雑草の除草剤抵抗性研究の発展に貢献すると期待される。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

雑草の除草剤抵抗性機構は、除草剤の作用点の変異に由来する作用点抵抗性と、除草剤の吸収、移行、代謝などの変異に由来する非作用点抵抗性とに大別される。

ALS阻害型除草剤およびACCase阻害型除草剤に対する抵抗性では、多くの場合が前者のタイプ、すなわち除草剤の作用点となる酵素 (ALSおよびACCase) の1アミノ酸置換によって抵抗性を獲得していることが知られている。一方、非作用点抵抗性については、分子機構も含めて抵抗性機構の解明が進んでいなかった。本論文は、カリフォルニアで発見された多剤抵抗性タイヌビエの抵抗性機構の解明を目的としたもので、評価すべき点は以下の通りである。

1. 本タイヌビエからALS阻害型除草剤、ACCase阻害型除草剤の作用点をコードする遺伝子をそれぞれ単離し、その塩基配列が感受性系統と同一であることを明らかにした。この結果から本タイヌビエのこれらの除草剤抵抗性は作用点抵抗性機構によらないことを明らかにした。
2. *CYP81A12*および*CYP81A21*の高発現がともに2つのALS阻害型除草剤 (ベンスルフロンメチル、ペノキススラム) 抵抗性に強く関連することを示した。またこれらの遺伝子は異なる染色体に座上し、その高発現は1つのトランス因子による制御を受けることを示した。一方で、ビスピリバック抵抗性には異なるシトクロムP450 (P450) が関与することを示した。
3. ビスピリバック処理により誘導されるP450遺伝子を7種同定し、それらのうち2種では抵抗性系統において高い転写レベルを示すことを明らかにした。ビスピリバック抵抗性に関与するP450はビスピリバック誘導性であることが示唆されていることから、これら2種のP450がビスピリバック抵抗性に関与する候補と考えられることを示した。

以上のように、本論文は、多剤抵抗性タイヌビエにおいて抵抗性を支える分子機構の一端を解明したものであり、耕地生態科学、農薬学、育種学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成25年6月13日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士 (農学) の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日：平成26年7月22日以降