

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	BASAVARAJ
論文題目	Genetic dissection of resistance of two rice cultivars against blast fungus <i>Magnaporthe oryzae</i> (イネ2系統が保有するいもち病抵抗性の遺伝学的解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>世界の作物の約30%が病害によって失われており、病害防除は食料安全にとって重要な課題である。最も安価で有効な病害防除法は、植物のもつ抵抗性遺伝子の利用である。抵抗性遺伝子の多くは、Nucleotide-binding Leucine-rich-repeat Receptor (NLR)型の細胞内受容体をコードしている。いもち病は、糸状菌<i>Magnaporthe oryzae</i>によって引き起こされるイネの重要病害である。いもち病は、様々なエフェクター分子をイネに注入し、その作用によって感染を成立させる。エフェクターの一部は、イネのNLR受容体によって認識されてイネに抵抗性を誘導する。イネのいもち病に対する抵抗性遺伝子は現在までに約30種類が単離同定されており、その多くはNLR型受容体をコードしていた。本論文は、イネの新規いもち病抵抗性遺伝子を同定して育種利用する目的で、2種類のイネ品種を材料として、それらが保有するいもち病抵抗性遺伝子を探索した。その結果、aus型品種Shoniから<i>Pikps</i>抵抗性遺伝子の単離同定に成功し、indica型品種Tupa121-3から<i>Pi-Tupa</i>遺伝子座を同定し、座乗する抵抗性遺伝子候補を特定することに成功した。</p> <p>第1章では、植物の病害抵抗性、NLR型抵抗性タンパク質、イネいもち病、イネの抵抗性遺伝子について、過去の知見を概説した。</p> <p>第2章では、イネ品種Shoniから<i>Pikps</i>抵抗性遺伝子を同定した。ausグループに属するイネ品種Shoniは、日本産のいもち病菌に対して強い抵抗性を示すことが知られていた。そこで、Shoniのいもち病抵抗性遺伝子単離を目的とした。日本産いもち病菌株Naga69-150株に対して、Shoniは抵抗性であるが、品種ひとめぼれは感受性である。そこで、Shoniとひとめぼれを交配して得られた組換え近交系 (Recombinant Inbred Lines: RILs) F₉世代125系統にNaga69-150株を接種し、いもち病罹病程度を観察してクラス0-2に分類した。罹病程度と各RILのゲノム配列との間の連関解析を実施したところ、第11染色体に罹病程度を決定する量的遺伝子座 (QTL) が座乗することが判明した。Shoniの全ゲノム配列を確定後、同定されたQTL領域を精査したところ、既知のいもち病抵抗性遺伝子<i>Pik</i>のホモログが存在したので、これを<i>Pikps</i>と命名し候補遺伝子とした。<i>Pikps</i>を保有するRIL系統を対象として、<i>Pikps</i>遺伝子の発現をRNAi法によりサイレンスしたところNaga69-150株に対して感受性となったことから、<i>Pikps</i>遺伝子がShoniのNaga69-150株に対する抵抗性を決定していることが示された。<i>Pikps</i>遺伝子は、<i>Pikps</i>-1と<i>Pikps</i>-2のペア-NLRをコードしており、既知の<i>Pik</i>対立遺伝子<i>Pikp</i>の産物<i>Pikp</i>-1と<i>Pikp</i>-2と比較したところ、<i>Pikps</i>-1と<i>Pikp</i>-1は1アミノ酸で異なり<i>Pikps</i>-2と<i>Pikp</i>-2は同一配列であることが示された。<i>Pikps</i>と<i>Pikp</i>は、供試したAVR-<i>Pik</i>の対立遺伝子に対して同じ認識特異性を示すことも判明した。</p> <p>第3章では、イネ品種Tupa121-3から<i>Pi-Tupa</i>抵抗性遺伝子候補を同定した。indica型のイネ品種Tupa121-3は日本産イネに強い抵抗性を示したため、Tupa121-3のいもち病抵抗性遺伝子単離を目的とした。いもち病菌85-141株に対して、Tupa121-3は抵抗性である一方、品種ひとめぼれは感受性である。そこで、Tupa121-3とひとめぼれを交配して得られたRILs150系統F₉世代を用いて、葉身のパンチ接種後に病斑面積を測定した。病斑面積の最も小さいRILsの25系統と最も大きいRILsの25系統を用いてQTL-seq解析を実施したところ、第5染色体に病斑面積と関連したQTLを見出し、<i>Pi-Tupa</i>と命名した。本領域に注目して詳細な連鎖解析を実施したところ、原因遺伝子の位置を127.9Kbの領域に狭めることができた。本領域には、2つの新規NLR型受容体遺伝子 (<i>NLR1</i>と<i>NLR2</i>) が存在した。これらの遺伝子を保有するRIL系統を用いて<i>NLR1</i>と<i>NLR2</i>をCR</p>			

ISPR/Cas9法によりノックアウトしたところ、*NLR1*のノックアウト個体は85-141菌株に抵抗性を維持していたが、*NLR2*のノックアウト/野生型のヘテロ接合体で抵抗性が減少した。このことから、*NLR2*が*Pi-Tupa*本体である可能性が高いと考察した。今後*NLR2*のホモノックアウト個体を用いて検証予定である。

以上のように、本研究ではゲノム情報を活用して遺伝学的にイネのいもち病抵抗性を解析することにより、NLR型のタンパク質をコードする抵抗性遺伝子の新規対立遺伝子*Pikps*および新規抵抗性遺伝子座*Pi-Tupa*の候補遺伝子を同定することに成功した。今後これらの遺伝子を利用してイネ育種に貢献することが期待される。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

いもち病は、糸状菌 *Magnaporthe oryzae* によって引き起こされるイネの重要病害である。いもち病は、様々なエフェクター分子をイネに注入し、その作用によって感染を成立させる。エフェクターの一部は、イネの Nucleotide-binding Leucine-rich-repeat Receptor (NLR) 型受容体によって認識されてイネに抵抗性を誘導する。本論文は、イネの新規いもち病抵抗性遺伝子を同定して育種利用する目的で、2種類のイネ品種を材料として、それらが保有するいもち病抵抗性遺伝子を探索した。その結果、aus型品種 Shoni から *Pikps* 抵抗性遺伝子の単離同定に成功し、indica型品種 Tupa121-3 から *Pi-Tupa* 遺伝子座を同定し、座乗する遺伝子候補を特定することに成功した。本研究の評価できる点は以下の通りである

1. aus型イネ品種 Shoni の日本産いもち病菌 Naga69-150 株に対する抵抗性は、*Pikps* 遺伝子によることが明らかとなった。
2. *Pikps* は、既報のいもち病抵抗性遺伝子座 *Pik* の新規対立遺伝子で、*Pikps*-1 と *Pikps*-2 のペアー-NLR をコードする遺伝子座である。既報の *Pikp* 対立遺伝子と比較すると、*Pikps*-1 は *Pikp*-1 と 1 アミノ酸で異なり、*Pikps*-2 は *Pikp*-1 と同一であった。
3. indica型イネ品種 Tupa の日本産いもち病菌 85-141 株に対する抵抗性を決定する QTL を第 5 染色体上に同定し、この座位を *Pi-Tupa* と命名した。*Pi-Tupa* のゲノム領域には、NLR 型受容体をコードする *NLR1* と *NLR2* 遺伝子が存在した。
4. *NLR1* と *NLR2* を保有し、85-141 菌株に抵抗性を示す RIL 系統を対象にして実施した *NLR1* と *NLR2* の遺伝子ノックアウト実験から、*NLR2* が *Pi-Tupa* の候補遺伝子として最有力であることを示した。

以上のように、本論文はイネのいもち病抵抗性についてゲノム解析を駆使した遺伝学的解析を行い、抵抗性遺伝子 *Pikps* の同定および *Pi-Tupa* の遺伝子候補同定に成功している。これらの成果は、植物遺伝学、植物病理学、植物進化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、令和 5 年 2 月 20 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： 年 月 日以降（学位授与日から 3 ヶ月以内）