

氏 名	よし だ けん た ろ う 吉 田 健 太 郎
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1579 号
学位授与の日付	平 成 18 年 7 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	農 学 研 究 科 応 用 生 物 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	A molecular population genetic study of nuclear loci involved in the host-parasite relationship of the wild rice <i>Oryza rufipogon</i> and the blast fungus <i>Pyricularia oryzae</i> (野生イネ <i>Oryza rufipogon</i> といもち病菌 <i>Pyricularia oryzae</i> の相互作用に関わる核遺伝子の分子集団遺伝学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 遠 藤 隆 教 授 大 西 近 江 教 授 谷 坂 隆 俊

論 文 内 容 の 要 旨

植物と病原菌は、互いに生存や繁殖に影響しながら進化してきたといわれているが、その進化機構は DNA レベルではあまり検証されていない。イネといもち病菌は、両方の全ゲノム配列が決定されており、植物と病原菌の進化機構を DNA レベルで解明する上で優れた材料である。本論文は、植物—病原菌の相互作用に関わるイネといもち病菌両方の核遺伝子の DNA 多型を分子集団遺伝学的に解析し、これら遺伝子の自然集団における DNA 多型維持機構と進化的背景を明らかにしたものである。その主な内容は以下の通りである。

野生イネ *Oryza rufipogon* のいもち病抵抗性遺伝子 *Pi-ta* の DNA 多型

O. rufipogon とその近縁種の *Pi-ta* の塩基配列を用いて、分子集団遺伝学的解析を行った。*O. sativa* の *Pi-ta* には、抵抗性対立遺伝子と罹病性対立遺伝子が存在する。*Pi-ta* の抵抗性対立遺伝子がコードするタンパク質は、いもち病菌の非病原性遺伝子 *AVR-Pita* の非病原性対立遺伝子がコードするタンパク質と結合し、イネの防御反応を誘導することが分っている。本研究の接種実験とアミノ酸変異から、*O. rufipogon* の *Pi-ta* にも抵抗性及び罹病性対立遺伝子が存在することを明らかにした。*O. rufipogon* の *Pi-ta* に、大きく二つに分化した塩基配列型（二型）が見られた。この塩基配列型の一方に抵抗性対立遺伝子が含まれていた。*O. rufipogon* の *Pi-ta* のサイレント領域における塩基多様度 (π) は 0.0101 であり、他の *O. rufipogon* の核遺伝子と同程度であった。抵抗性対立遺伝子の π は、罹病性対立遺伝子より低く、抵抗性対立遺伝子は、罹病性対立遺伝子から生じたことが示唆された。系統解析により、罹病性から抵抗性への変化の原因であるアミノ酸変異は、最近起こったことが示唆された。中立性の検定によって、罹病性対立遺伝子に純化選択が作用していることが示唆された。

いもち病菌 *Pyricularia oryzae* の非病原性遺伝子 *AVR-Pita* の DNA 多型

日本の栽培イネに感染していたいもち病菌、外国産のいもち病菌、アワとキビに感染するいもち病菌の非病原性遺伝子 *AVR-Pita* の塩基配列を用いて、分子集団遺伝学的解析を行った。いもち病菌の *AVR-Pita* のサイレント領域の π は、0.0024 だった。エキソンの非同義部位の π は、同義部位より高かった。*AVR-Pita* には、病原性の複数のハプロタイプ（対立遺伝子）が存在し、それらは非病原性対立遺伝子のハプロタイプからそれぞれ独立して生じたことが明らかになった。中立性の検定では、統計的に有意な結果は得られなかった。アミノ酸変異が *AVR-Pita* に多い原因として、2つの機構が考えられた。

第一の機構では、*Pi-ta* の抵抗性対立遺伝子をもつイネの存在下では、*AVR-Pita* の非病原性対立遺伝子をもつ菌より病原性対立遺伝子をもつ菌のほうが生存に有利であり、病原性対立遺伝子をもつ菌が非病原性対立遺伝子をもつ菌に移り変わったと考えられる。そのため、*Pi-ta* の抵抗性対立遺伝子をもつイネに感染するいもち病菌と *Pi-ta* の罹病性対立遺伝子をもつイネに感染するいもち病菌間で、*AVR-Pita* のアミノ酸配列に違いが生じた。第二の機構では、いもち病菌は半

数体生物で有効な集団の大きさが小さいため、AVR-Pita にアミノ酸変異が多く見られた原因として、弱有害突然変異の蓄積が考えられる。

野生イネ *O. rufipogon* といもち病菌 *P. oryzae* の相互作用時に発現する遺伝子の DNA 多型

O. rufipogon の防御に関与する PR タンパク質遺伝子 *PBZ1*, *Cht-3*, *Oschib3h-b* とイネへの侵入に必要ないもち病菌の *MPG1* の DNA 多型を解析した。*O. rufipogon* における *PBZ1*, *Cht-3*, *Oschib3h-b* の π は、それぞれ 0.0054, 0.0036, 0.0430 だった。*Oschib3H-b* には、大きく分化した 3 つ塩基配列型が存在した。*Oschib3H-b* の高い π は、これら 3 つの塩基配列型間の塩基配列の違いであることが分った。中立性の検定より、*Oschib3H-b* に平衡選択が作用していることが示唆された。*MPG1* には、非同義部位だけでなく同義部位にも全く変異が観察されなかった。*MPG1* は、感染に絶対に必要な遺伝子であり、MPG1 の機能を失ったいもち病菌は子孫を残すことができないことから、純化選択が非同義部位に作用していると推察された。また、MPG1 は、特定のコドンを使用していることが明らかになった。コドン変異を除去する純化選択が作用しているため、*MPG1* の同義部位に変異がないことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

植物と病原菌は、互いに生存や繁殖に影響しながら進化してきたといわれているが、DNA レベルではあまり検証されていない。本論文は、イネいもち病に着目し、宿主-病原菌の相互作用に関わる核遺伝子の DNA 多型維持機構とその進化的背景を解明することを目的に、イネといもち病菌、両方の核遺伝子の DNA 多型を分子集団遺伝学的に解析したものである。評価すべき点は以下の通りである。

1. 野生イネ *Oryza rufipogon* のいもち病抵抗性遺伝子 *Pi-ta* の DNA 変異量と変異パターンを明らかにし、DNA 多型維持機構を考察した。その結果、*Pi-ta* の変異量は、他の *O. rufipogon* の核遺伝子と同程度であり、*Pi-ta* に二つに分化した塩基配列型（二型）が存在し、さらに、その一方に抵抗性対立遺伝子と罹病性対立遺伝子が在ることを、接種実験とアミノ酸変異から明らかにした。また、中立性の検定より罹病性対立遺伝子に純化選択が作用していることを示唆した。
2. *O. rufipogon* と栽培イネの *Pi-ta* の DNA 多型解析より、抵抗性対立遺伝子の進化的背景を明らかにし、抵抗性対立遺伝子が、罹病性対立遺伝子から最近生じたことを示唆した。
3. 宿主のイネだけでなく、いもち病菌の非病原性遺伝子 AVR-Pita の DNA 変異量と変異パターンを明らかにし、DNA 多型維持機構を考察した。AVR-Pita では、非同義部位の変異量が同義部位の変異量に比べ高かった原因を、弱有害突然変異と自然選択によって説明できることを示した。
4. いもち病菌の AVR-Pita の DNA 変異とアミノ酸変異に基づいた系統解析により、AVR-Pita の病原性対立遺伝子の進化的背景を明らかにした。AVR-Pita には、病原性対立遺伝子である複数のハプロタイプが存在し、非病原性対立遺伝子のハプロタイプからそれぞれ独立して生じたことを示唆した。
5. *O. rufipogon* の防御に関与する PR タンパク質遺伝子とイネへの侵入に必要ないもち病菌の *MPG1* の DNA 多型を解析した。PR タンパク質遺伝子のうち、*Oschib3H-b* に平衡選択が作用していることを示唆した。また、*MPG1* では、非同義部位だけでなく、同義部位にも変異が観察されなかった。*MPG1* は、特定のコドンが使用されており、非同義部位だけでなく同義部位にも純化選択が作用していることを示唆した。

以上のように、本論文は、野生イネといもち病菌の相互作用に関与する核遺伝子の DNA 多型維持機構及び進化的背景を明らかにしたもので、集団遺伝学、植物遺伝学、植物育種学、植物病理学の分野に寄与するところが多い。

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18年6月16日、論文なら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。