



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on DNA rearrangements in rice blast fungus [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	PHYO HAN THWIN
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14652号
Issue Date	2021-09-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/83148
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	hyo_han_thwin_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（農学）	氏 名	Phyo Han Thwin
審査担当者	主査	教授	曾根輝雄（国際食資源学院）
	副査	教授	増田 税
	副査	准教授	江澤辰広
	副査	客員准教授	菊池義智

学位論文題名

Studies on DNA rearrangements in rice blast fungus (イネいもち病菌における DNA 再編成に関する研究)

本論文は英文 142 頁，図 40，表 42，5 章からなり，参考論文 1 編が付されている。

イネいもち病菌 *Pyricularia oryzae* によって引き起こされるいもち病は稲作の最重要病害である。イネのいもち病に対する抵抗性は抵抗性遺伝子（R 遺伝子）と病原菌の非病原性遺伝子（AVR 遺伝子）の相互作用による Gene-for-Gene 説に従うことが知られている。R 遺伝子をもつ抵抗性イネ品種が有効に病害を防除しているときには，AVR 遺伝子の変異に対する選択圧が高まり，やがて抵抗性の崩壊をもたらす。一方で AVR 遺伝子は植物の基本的な免疫である MAMPs triggered immunity をかく乱するエフェクター分子の生産に関わるとされ，R 遺伝子がない環境では病原菌の環境へのフィットネスを上昇させることも知られており，AVR 遺伝子の再獲得が起こることも知られている。しかしながら，これらの AVR 遺伝子の変異や再獲得のメカニズムに関する知見は少ない。そこで，本研究では AVR 遺伝子の一つである *AVR-Pik* の欠失のメカニズムの解明と，再獲得メカニズムの候補としての疑似有性組換えの圃場条件での発生の可能性の検討を行った。

1. イネいもち病菌自然突然変異株 Ina168m95-5 における *AVR-Pik* の変異機構の解析

Ina168 株はそのゲノムに 1 コピーの *AVR-Pik* 遺伝子を持ち，R 遺伝子 *Pi-k* を持つイネ品種には感染出来ない。Ina168 株の *AVR-Pik* 遺伝子座の塩基配列を，3 つのコスミドクローンのシーケンス解析と追加の inverse PCR 解析により，55kb にわたって明らかにすることが出来た。そこには，トランスポゾンやレトロトランスポゾンなどの反復配列が多数含まれていた。一方で，自然突然変異株である Ina168m95-5 株では，*AVR-Pik* が欠失しており，Ina168 との相同性を示した領域を起点とした Inverse PCR により 56 kb の配列を明らかにすることが出来た。この領域には，Ina168 株の *AVR-Pik* 座の配列には含まれない配列も含まれており，それらの起源と考えられる Ina168 株ゲノムライブラリーからコスミドクローンを得た。これらの配列解析により，トランスポゾン *Pot2-like* の中に起こった DNA 二重鎖切断を引き金とした 4 回の相同組換えによる *AVR-Pik* の欠失メカニズムを提唱した。

2. イネいもち病菌圃場分離株における疑似有性組換えの痕跡の探索

疑似有性組換えは糸状菌特有の遺伝現象であり、異なる個体間での菌糸の融合と、それに続く核融合と半数化による DNA 断片の交換を行う現象である。疑似有性組換えはイネいもち病菌における遺伝情報の交換のメカニズムであるとされており、*in vitro* では変異株を用いた実験的証明が行われているが、圃場環境ではその存在は確認されていない。圃場分離株間の DNA 組換えの痕跡を探るため、ゲノムに散在する SSR（単純反復配列）マーカーを用いた。近接する圃場から分離されたイネいもち病菌の分離株集団から、SSR マーカーの組換えによる交換を行った可能性のある 23 の遺伝子型のセットを見つけ出した。これらに対して反復配列である MGR マーカーの交換やパルスフィールドゲル電気泳動法による転座の解析を行った。その結果、1 つの遺伝子型セットの中に、MGR マーカーの交換を見つけ出した。疑似有性組換えの痕跡である可能性がある。

以上、本研究ではイネいもち病の DNA 再編成について、DNA 欠失のメカニズムを明らかにすると共に、圃場での疑似有性組換えを示唆する痕跡を見つけ出すことが出来た。これらは、イネいもち病の防除における、抵抗性品種の持続可能な利用法の確立に大きく寄与する事が期待される。

よって審査員一同は、Phyo Han Thwin が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。