

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 李 榮 珍

植物病害防除のための手段として、現在、殺菌剤の施用は依然としてひとつの大きな柱だが、近年、環境保全重視の立場から開発された選択性の高い殺菌剤の普及に伴って、これら薬剤に対する耐性菌の出現が深刻な問題となっている。植物病原菌の薬剤耐性には各種の機構があるが、最近、一部の植物病原菌類においてABCトランスポーターがその薬剤耐性ならびに病原性に関与していることが示された。そこで本研究では、ABCトランスポーター遺伝子が各種植物病原菌類に普遍的に存在することを明らかにした後、イネいもち病菌のABCトランスポーター遺伝子についてその薬剤耐性に関わる機能を解析した。得られた成果の概要は次のとおりである。

1. 各種植物病原菌類におけるABCトランスポーター遺伝子の分布

各種植物病原菌類におけるABCトランスポーター遺伝子の分布を解析するため、分類学的に所属の異なる7種の植物病原菌類、すなわち、イネいもち病菌 *Magnaporthe grisea*、イネ紋枯れ病菌 *Thanatephorus cucumeris*、灰色かび病菌 *Botrytis cinerea*、タバコ赤星病菌 *Alternaria alternata* tobacco pathotype、ウリ類炭そ病菌 *Colletotrichum lagenarium*、トマト萎凋病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*、およびジャガイモ疫病菌 *Phytophthora infestans* について、本遺伝子の存在の有無をサザンハイブリダイゼーション法によって調べるとともに、PCRクローニングによってそれらの遺伝子断片を単離してその塩基配列を解析した。その結果、各種植物病原菌類にABCトランスポーター遺伝子が普遍的に存在していることが明らかにされた。

2. イネいもち病菌の薬剤耐性に関わるABCトランスポーター遺伝子の機能

イネいもち病菌のABCトランスポーターに着目し、その遺伝子の単離と構造決定ならびに薬剤耐性に関わる機能の解析を行った。まず、degenerate PCRによってイネいもち病菌のABCトランスポーター遺伝子断片の単離を試みた結果、計5種のABCトランスポーターホモログの遺伝子断片が得られ、それらをそれぞれH-I、H-II、H-III、H-IV、H-Vと命名した。このうち、薬剤耐性に関与している可能性が高いH-Iについてその全長の遺伝子を単離することとし、ゲノムDNAからIPCRとLA PCRによって本遺伝子全長を含む約7.4kbのDNA断片をクローニングし、その全塩基配列を決定したところ、2箇所のABC領域と2箇所の膜貫通領域を含む典型的なMRP型のABCトランスポーター遺伝子の構造が明らかにされたため、この遺伝子を *ABC2* と命名した。

次いで、上記で得られたホモログ遺伝子断片を含む各遺伝子の薬剤耐性との関連性を調べるため、イ

ネいもち病菌に各種の薬剤をそれぞれ処理した後、全RNAを抽出して上記5種の本モログ断片をそれぞれプローブとしたノーザンハイブリダイゼーションを行い、各遺伝子の発現誘導を課べた。その結果、H-II、H-III、H-IV、H-V断片では、どの薬剤を処理した場合にも誘導発現のシグナルは検出されなかつたが、H-I断片では、ブラストサイジンSとEDDP (edifenphos) の処理区で強いシグナルが検出され、またプロベナゾール、IBP、イソプロチオラン、トリシクラゾール、ピロキノンの処理区でも弱いシグナルが検出された。このことからH-I断片を含むABCトランスポーター遺伝子 *ABC2* がこれらの薬剤処理によって誘導的に発現することが明らかにされた。さらに、*ABC2* の経時的な発現の変化を調べたところ、ブラストサイジンSを処理した場合では処理後20分でシグナルが現れ、1時間後には発現量が急激に上昇するのに対して、EDDPの処理では時間の経過に伴った急激な変化はなく漸進的に発現量が上昇した。このように *ABC2* は上記の7種類のいずれもイネいもち病防除剤によってその発現が誘導されることから、この遺伝子がイネいもち病菌の各種薬剤耐性と関係している可能性が強く示唆された。

以上、本研究は、各種植物病原菌類におけるABCトランスポーターの普遍的な分布を明らかにした後、イネいもち病菌のABCトランスポーター遺伝子 *ABC2* を単離してその構造を決定するとともに、本遺伝子が各種イネいもち病防除剤に対する基本的な耐性に関与している可能性を示した。本研究で得られた成果は学術上、応用上寄与するところが大きい。よつて審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。