

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 RATHNAYAKA GAMAGE Shyali Iroshani

(ラシヤケ ガマゲ シャヤリ イロシャニ)

論文題目 Gene mapping of bruchid resistance in moth bean (*Vigna aconitifolia*)

(モスビーン (*Vigna aconitifolia*) におけるマメゾウムシ抵抗性の遺伝子マッピング)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学大学院生命農学研究科教授 中園 幹生

委 員 名古屋大学農学国際教育研究センター教授 犬飼 義明

委 員 名古屋大学大学院生命農学研究科教授 村瀬 潤

委 員 名古屋大学大学院生命農学研究科准教授 水口 智江可

委 員 名古屋大学大学院生命農学研究科准教授 高橋 宏和

委 員 カセサート大学農学部准教授 Prakit SOMTA

委 員 カセサート大学農学部助教 Orn-u-ma TANADUL

論文審査の結果の要旨

RATHNAYAKA GAMAGE Shyali Iroshani は、モスビーン (*Vigna aconitifolia*) のゲノム上のマメゾウムシ (*Callosobruchus chinensis*) 抵抗性遺伝子座 (*qVacBrc2.1*) のファインマッピングを実施するとともに、マメゾウムシ抵抗性に関わる遺伝子を網羅的に同定するために RNA Sequencing (RNA-Seq) 解析を行い、いくつかのマメゾウムシ抵抗性に関わる可能性のある遺伝子を同定した。以下にその要旨を記載する。

Vigna 属植物は、その優れた栄養特性と様々な作付体系への適応性により、食用マメ類作物として世界中で広く栽培されている。モスビーンは、乾燥耐性、耐暑性、限界地での生存能力などの形質を持つことからアジアの一部の乾燥地帯で栽培されているものの、現時点では世界的に十分に利用されていない。しかし将来的には、気候変動に適応できる *Vigna* 属作物として、モスビーンの栽培拡大が期待されている。そのためには、モスビーンの短所であるマメゾウムシ抵抗性が低い点を改良する必要がある。マメゾウムシは、*Vigna* 属作物に重大な損失をもたらす深刻なポストハーベスト害虫である。従来のマメゾウムシに対する対策にはいくつかの欠点があるため、世界的に *Vigna* 属作物におけるマメゾウムシ耐性品種の作出が期待されている。そのような背景から、マメゾウムシの侵入によるマメ（種子）への食害なしに持続可能な収量を得るために、マメゾウムシ抵抗性遺伝子を導入した新品種を作出することは有用な研究アプローチである。そのために、本研究では、マメゾウムシへの抵抗性強の品種と抵抗性弱の品種を交配して得られた雑種第二代 (F_2) の分離集団を用いて、Quantitative Trait Locus (QTL ; 量的形質遺伝子座) 解析を実施するとともに、両品種の種子から抽出した RNA を用いて、比較トランスクリプトーム (RNA-seq) 解析を行うことで、マメゾウムシ抵抗性遺伝子を同定することを試みた。

先行研究では、モスビーンのマメゾウムシ抵抗性強の系統である TN67 とマメゾウムシ抵抗性弱の系統である ICPMO056 を交配して得られた F_2 集団 (F_2 OA 集団) を用いた遺伝学的解析によって、TN67 のマメゾウムシに対する抵抗性は

論文審査の結果の要旨

qVacBrc2.1 と呼ばれる主要な QTL に位置する単一の遺伝子座に起因することが示された。本研究では、*qVacBrc2.1* のファインマッピングを実施し、この遺伝子座の候補遺伝子を上記の F₂OA 集団と、同じ交配から得られた大規模 F₂ 集団 (F₂NB 集団) の両方を用いて同定した。先行研究の結果とは異なり、F₂NB 集団ではマメゾウムシ抵抗性が 2 つの遺伝子座によって制御されていることが明らかになった。さらに、*qVacBrc2.1* に新たなマーカーを加え、F₂OA 集団の QTL を再解析した結果、*qVacBrc2.1* は *qVacBrc2.1-A* と *qVacBrc2.1-B* の 2 つの連鎖 QTL から構成されていることが明らかになった。F₂NB 集団を用いた場合でも、*qVacBrc2.1-B* の存在を確認した。3 種類の *Vigna* 属植物のゲノム情報を用いた比較ゲノム解析では、ポリガラクトナーゼ阻害タンパク質 (polygalacturonase inhibitor protein (PGIP)) をコードする 2 つのタンデム重複遺伝子、*VacPGIP1* と *VacPGIP2* の存在が強く示唆され、マメゾウムシ抵抗性遺伝子の候補となった。本研究では、*VacPGIP1* のみがクローニングと配列決定に成功した。TN67 と ICPMO056 の *VacPGIP1* のコード配列の比較から、8 つの一塩基多型が示され、そのうち 3 つは ICPMO056 のポリガラクトナーゼ阻害タンパク質の予測ドメインのアミノ酸配列が変化していた。これらの結果は、*VacPGIP1* と *VacPGIP2* が TN67 におけるマメゾウムシ抵抗性を制御していることを示唆した。

続いて、マメゾウムシ抵抗性強の TN67 とマメゾウムシ抵抗性弱の ICPMO056 の未成熟な葉、種子、サヤから抽出した RNA を用いて、RNA-seq 解析を行った。それらのデータをアズキゲノムにマッピングしたところ、高いマッピング率が得られた。配列の違いを考慮するため、解析に *de novo* アセンブリーのステップを含めた。その結果、アノテーションされた遺伝子の 68% が発現しており、1335 の新規遺伝子、6095 の DEGs (differentially expressed genes) が見つかった。DEGs のヒートマップを作成し、防御応答 DEGs の発現クラスターパターンを可視化した。その結果、ペプチダーゼ関連では、マメゾウムシ抵抗性強の TN67 において、セリンタイプエンドペプチダーゼインヒビター遺伝子の発現量は増加したが、シスチンタイプエンドペプチダーゼインヒビター遺伝子の発現量は減少したことが分

論文審査の結果の要旨

かった。また、ポリガラクトナーゼインヒビタータンパク質遺伝子とレクチン遺伝子の発現レベルは、成熟したステージでより大きな増加が観察された。この結果から、成熟した種子において、ポリガラクトナーゼインヒビタータンパク質遺伝子やレクチン遺伝子などのマメゾウムシ抵抗性に関わると考えられる遺伝子の発現レベルが高いことが示唆された。本研究によって、モスビーンのマメゾウムシ抵抗性に関わる遺伝子の候補が同定できたので、今後はそれらの候補遺伝子を導入することでマメゾウムシ抵抗性品種の作出が加速すると期待される。

したがって、本委員会は本論文が博士（農学）の学位論文として十分な価値を有すると認め、論文審査に合格と判定した。