

イネいもち病菌の *AVR-Pik* 遺伝子の欠失変異機構の解明

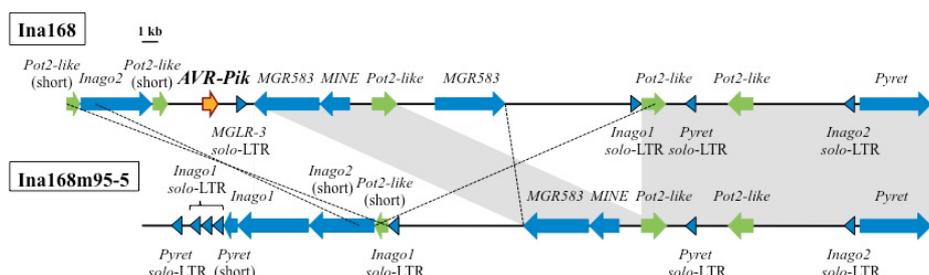
応用生物科学専攻 生命分子化学講座 応用分子微生物学 富田有貴

## 1. 研究背景

イネいもち病はイネの最重要病害であり、その原因菌は子実う菌の1種、イネいもち病菌 (*Pyricularia oryzae*) である。いもち病菌に非病原性遺伝子 (AVR遺伝子) が存在すると、その遺伝子に対応する抵抗性遺伝子 (R遺伝子) を持つイネには感染できない。現在、いもち病の防除にはこの宿主特異性を利用した抵抗性イネ品種が用いられているが、いもち病菌のAVR遺伝子の突然変異によるイネの抵抗性の崩壊が問題となっている。そこで、AVR遺伝子の突然変異機構を解明し、突然変異を抑制することが新しい防除法につながる可能性がある。本研究ではイネのR遺伝子 *Pik* に対応するいもち病菌のAVR遺伝子 *AVR-Pik* に着目しており、これまでに圃場分離株である日本産イネいもち病菌 Ina168 株は1コピーの *AVR-Pik* を持つこと、Ina168株の *avr-pik* 自然突然変異株である Ina168m95-5株は *AVR-Pik* を欠失していること、その欠失には周辺領域の複雑な再編成が関与していることを明らかにしてきた。しかし、欠失変異機構の詳細は解明できなかったため、両株の塩基配列を決定していくことでその解明を試みた。

## 2. 方法・結果

当研究室が保有する Ina168 株のコスミドゲノムライブラリーから *AVR-Pik* 周辺の3種類のコスミドクローンをスクリーニングし、配列解析を行った。結果、約 49 kb の塩基配列を決定し、*AVR-Pik* 近傍にはトランスポゾン *Pot2-like* やレトロトランスポゾン *MGR583*, *MINE*, *Pyret*, 各種レトロトランスポゾンの LTR 配列など、反復配列が多数存在することが明らかとなった。次に、決定した Ina168 株の塩基配列情報を基に、サザン解析や Inverse-PCR, シークエンス解析を利用して Ina168m95-5 株の相同領域の構造を解析した。結果、*AVR-Pik* を含む欠失領域と部分的に保存された領域、完全に保存された *AVR-Pik* の 3' 側の欠失末端が存在した。また、Ina168 株の約 49 kb の領域には存在しないレトロトランスポゾン *Inago2* と *Inago1* が存在した。そこで、それらの由来となった Ina168 株の遺伝子座および *AVR-Pik* の 5' 側の欠失末端を特定するため、両株の更なる配列解析を行った。結果、Ina168 株においては、*AVR-Pik* の 5' 側に *Inago2* と *Pot2-like* が存在し、Ina168m95-5 株の配列の一部と相同であった。一方、Ina168m95-5 株においては、*Inago1* の下流に *Pyret*, *Inago1 solo-LTR*, *Pyret solo-LTR* および低コピー領域が存在した。以上より、*AVR-Pik* の欠失はその 3' 側に存在する同方向の2コピーの *Pot2-like* の一方に起こる2重鎖切断に始まり、続くもう一方の *Pot2-like* との相同組換え、2つの *MGR583* 間の相同組換え、切断された *Pot2-like* と *AVR-Pik* の 5' 側に存在する *Pot2-like* との相同組換え、更にそれに隣接した *Inago2* と別な遺伝子座に存在する *Inago1* に隣接した *Inago2* との相同組換えを含む複雑な再編成の過程で起こったものと示唆された。

図. Ina168 株の *AVR-Pik* 近傍の配列と Ina168m95-5 株の相同領域の配列