

審査の結果の要旨

氏名 野村 研

植物ウイルスには有効な化学農薬が存在しないため作物の抵抗性品種は植物ウイルスの防除に効果的であるが、農業現場では抵抗性を打破するウイルス変異株の出現が問題となっている。一方、従来のウイルス抵抗性品種に加えて、遺伝子組換え技術を利用し、植物ウイルスの部分配列を植物に導入することにより、ウイルス抵抗性を付与する技術が開発されている。この抵抗性は **pathogen-derived resistance** と呼ばれており、その大部分は **RNA サイレンシング** を介したウイルス配列に特異的な抵抗性反応であると考えられている。

ポティウイルス科は植物ウイルス全体の 30% を占める最大の植物ウイルスグループであり、その作物生産への被害は甚大である。本研究ではいずれもポティウイルス科に含まれるオオムギ微斑ウイルス (**BaMMV**) ならびにカブモザイクウイルス (**TuMV**) を対象とし、ウイルス抵抗性品種の作出あるいは抵抗性品種を打破するウイルスについて一連の研究を行った。

1. 植物ウイルスに見られる病原性の分化

オオムギ縞萎縮病は世界各国で発生し、オオムギに減収や品質低下などの大きな被害を与える。オオムギ縞萎縮病の病原としてオオムギ縞萎縮ウイルス (**BaYMV**) と **BaMMV** の 2 種が関与することが知られているが、日本では主に **BaYMV** を対象に抵抗性品種が育成されてきた。香川県および山口県で **BaYMV** 抵抗性オオムギ品種に発生した縞萎縮病の病原を解析したところ、**BaMMV** の発生が確認され、これらがドイツで分離された既知系統である **BaMMV-M** とは病原性及び血清型の異なる新系統であることを明らかにした。

TuMV はアブラナ科作物の主要病原ウイルスであるが、神奈川県平塚市内で栽培されているダイコン及びキャベツのモザイク症状株から **TuMV-KR** 株及び **KC** 株をそれぞれ分離し、病原性や血清反応について **TuMV** ナタネ分離株 (**TuMV-JO**) と比較解析したところ、血清関係は認められたが、一部のアブラナ科植物における病原性に違いが見られた。

2. **TuMV** ゲノム由来の遺伝子を導入した形質転換植物の作出と **TuMV** 抵抗性

TuMV 抵抗性植物を作出するため、**TuMV-JO** の **CP** 遺伝子全長をシロイヌナズナに形質転換した。サザンブロット解析およびノーザンブロット解析により遺伝子導入を確認し、**RNA サイレンシング** の指標となる **siRNA** を検出した。こ

れらに病原性及び CP 配列の相同性が異なる 20 種類の TuMV 分離株を接種した結果、供試した TuMV 分離株に対し、すべての系統が抵抗性を示した。また、TuMV-CP、CP の 3'末端側部分塩基配列、Nib の 3'末端側部分塩基配列およびゲノム結合タンパク質 (VPg) 遺伝子全長を *Nicotiana benthamiana* に形質転換した。導入遺伝子の種類に関らず、高度な抵抗性を示す個体、及び新たな展開葉に病徴が認められなくなる回復型抵抗性 (リカバリー) を示す個体が認められた。サザンブロット解析およびノーザンブロット解析により遺伝子導入を確認し、RNA サイレンシングの指標となる siRNA を検出した。これらの結果から、TuMV 遺伝子の導入によりアブラナ科及びナス科などの異種植物で抵抗性植物を作出できること、また、広範な TuMV に対して有効であることを示した。

3. TuMV 抵抗性形質転換体の CMV 感染による抵抗性打破

植物ウイルスの多くは RNA サイレンシングサプレッサーをコードするため、RNA サイレンシングが誘導されたウイルス抵抗性植物の抵抗性が打破される可能性がある。これを検証するため、RNA サイレンシングサプレッサーをコードするキュウリモザイクウイルス (CMV)、ジャガイモ Y ウイルス (PVY)、およびジャガイモ X ウイルス (PVX) を用いて解析を行った。CMV を TuMV-CP 形質転換シロイヌナズナに接種し、その後の展開葉に TuMV を接種した植物の中に病徴を示す個体が確認され、TuMV が検出されたことから、TuMV 抵抗性が CMV 感染により打破されることが確認された。また、CMV を TuMV-CP 形質転換 *N. benthamiana* に接種した後、TuMV-GFP を接種したところ、病徴を示す個体が確認され、これらの個体ではスポット状の GFP 蛍光が観察された。PVY もしくは PVX を TuMV-CP 形質転換 *N. benthamiana* に接種した後に TuMV を接種した場合は TuMV は感染せず、TuMV 抵抗性は維持されていた。以上の結果から、植物ウイルスの感染により RNA サイレンシングを介したウイルス抵抗性は打破されうるが、その程度はウイルスにより異なることが示唆された。

以上を要するに、ポティウイルス科ウイルスを対象とし、抵抗性を打破するウイルス分離株、病原性の異なるウイルス分離株の性状を解析した。また、ウイルス部分配列を導入したアブラナ科およびナス科植物を作出し、RNA サイレンシングを介したウイルス抵抗性を獲得することを示した一方で、他種のウイルス感染によりその抵抗性が打破されうることを示した。これらの知見は RNA サイレンシングを利用したウイルス抵抗性作物品種の効率的な作出に寄与する農学的に重要な研究成果である。以上より、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。