



Title	Brassica rapaのTurnip mosaic virusに対する全身えそ誘導遺伝子の解析及びアスコルビン酸を介したウイルス抵抗性の誘導機作の解明 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	藤原, 綾香
Citation	北海道大学. 博士(農学) 甲第11389号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/55889">http://hdl.handle.net/2115/55889</a>
Rights(URL)	<a href="http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Ayaka_Fujiwara_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

# 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 藤原 綾香

審査担当者	主査	教授	増	田	税
	副査	客員教授	松	村	健
	副査	講師	犬	飼	剛
	副査	助教	志	村	華子

## 学位論文題名

*Brassica rapa* の *Turnip mosaic virus* に対する全身えそ誘導遺伝子の解析及び  
アスコルビン酸を介したウイルス抵抗性の誘導機作の解明

ハクサイ、カブなどの *B. rapa* 作物において、*Turnip mosaic virus* (TuMV) に全身感染した場合えそやモザイクといった病徴が現れるが、特にえそが発現するとその個体は枯死に至る。こうしたウイルス病の防除方法として、抵抗性遺伝子あるいは病徴軽減のための耐性遺伝子の付与、農薬の利用などが考えられるが、抵抗性についてはウイルス側の変異が常に問題となる。また、病徴発現に関わる宿主側の要因については未解明な部分が多く、抗ウイルス剤もほとんど開発されていない。本研究では、*B. rapa* の TuMV に対する抵抗性遺伝子と全身えそ誘導遺伝子との関係を明らかにすることにより、今後のウイルス耐性育種に対して有用な知見を提示した。また、ウイルスに対する抵抗性反応の一つとして抗ウイルス作用をもつアスコルビン酸 (AsA) の蓄積が誘導されること及びその誘導機作を植物で初めて明らかにし、さらにこれらの知見に基づいて AsA が TuMV に対する抗ウイルス剤として有効であることを示した。これら研究成果の概要は以下の通りである。

### 1) *Brassica rapa* 作物の *Turnip mosaic virus* に対する抵抗性遺伝子座 *Rnt1* のえそ病徴誘導への関与

TuMV をハクサイ、カブ品種に接種すると、その組合せによりシビアなえそ、マイルドなえそ及びモザイクなど多様な病徴が観察されたことから、TuMV 感染による病徴のタイプは宿主とウイルス双方がもつ因子の組合せによって決定されていると考えられた。交雑実験の結果より、えその誘導には高度抵抗性遺伝子と同座の遺伝子が関与していることが明らかにされ、この遺伝子座は *Rnt1* (Resistance and necrosis to TuMV) と命名された。この遺伝子座の複対立遺伝子のうち、*Rnt1-1* は高度抵抗性、*rnt1-2* はえそを誘導し、*rnt1-3* ではモザイクとなる。ウイルス側の因子については、ゲノムの配列解析及び site-directed mutagenesis 解析の結果からそれが CI 遺伝子であること並びにこの CI タンパクの V1827E

変異が観察されたすべての病徴変化及び抵抗性の打破に参与していることが明らかにされた。えその誘導には *rnt1-2* が関わっているが、抵抗性遺伝子 *Rnt1-1* も CI の変異によってえそを誘導するようにその表現型が変化するため、えその発現をあらかじめ防ぐためには *Rnt1-1* や *rnt1-2* を育種の過程で除く方が望ましいと考えられた。そこで、それらの選抜を効率化できる DNA 多型マーカーの設計が試みられ、*Rnt1* と組換え価 0% で連鎖する 129-center が選抜用マーカーとして作出された。

## 2) *Rnt1-1* による TuMV 抵抗性と連動したアスコルビン酸蓄積量の増加とその誘導機作

AsA には、ウイルスが宿主の RNA サイレncing を抑制するために産生する RNA サイレncing サプレッサーの機能を阻害する作用のあることが *in vitro* の実験より明らかにされている。植物がウイルスに対する防御反応として AsA の蓄積誘導を行っているかどうか *B. rapa* と TuMV の系において調べたところ、*Rnt1-1* による抵抗性と連動して接種後 3 日目から総 AsA 量が 50% 程度増加することが認められた。このレベルの総 AsA 量の増加でもウイルス耐性が十分増大することがアラビドプシスのアスコルビン酸オキシダーゼ変異体を用いた実験結果より示されたことから、*Rnt1-1* 抵抗性と連動して生じる総 AsA 量の増加はウイルスに対する防御反応であることが示唆された。そこで、その誘導経路を明らかにする目的で AsA 合成及びその酸化・還元経路上の遺伝子の発現量や酵素活性の変化を調べたところ、AsA の酸化が抑制される一方、酸化型 AsA の還元が促進されていることが見出された。また、この AsA の酸化抑制及びリサイクル促進の誘導にジャスモン酸 (JA) がシグナルとして働き、実際 *Rnt1-1* 抵抗性に伴って JA 類縁体が蓄積されることも明らかにされた。以上の結果に基づき、*Rnt1-1* 抵抗性と連動した総 AsA 量の増加は JA シグナルを介して誘導される抗ウイルス反応であることが示された。

## 3) *Brassica rapa* 作物と TuMV の系におけるアスコルビン酸の抗ウイルス剤としての効果

AsA 誘導体である水溶性の L(+)-アスコルビン酸 2-硫酸エステル 2 ナトリウム 2 水和物 (AsA-SO<sub>4</sub>)、脂溶性のアスコルビン酸パルミチン酸エステル (AsA-Pal) 及び酸化型 AsA であるデヒドロアスコルビン酸 (DHA) を葉に塗布処理して TuMV に対する抗ウイルス作用を評価したところ、接種葉におけるウイルスの感染点数は AsA-SO<sub>4</sub> 20 mM 処理で 45%、AsA-Pal 20 mM 処理で 32%、DHA 20 mM 処理で 70% 減少することが明らかとなった。また、葉挿し法により AsA-SO<sub>4</sub> 20 mM 溶液を直接葉に吸収させたところ感染点数はさらに 70% 減少した。以上の結果から、AsA は抗ウイルス剤として有効であること、また植物組織内への浸透性を高めることでさらに効果を上げられる可能性が示された。

よって、審査員一同は、藤原綾香氏が博士 (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。