



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ジャガイモやせいもウイルスの病原性と宿主トマトにおける病徴発現に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	直井, 崇
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14807号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/85447">https://hdl.handle.net/2115/85447</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Naoi_Takashi_review.pdf, 審査の要旨



# 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 直 井 崇

審査担当者 主 査 教 授 増 田 税  
副 査 教 授 近 藤 則 夫  
副 査 講 師 畑 谷 達 児

## 学 位 論 文 題 名

ジャガイモやせいもウイルスの病原性と  
宿主トマトにおける病徴発現に関する研究

ウイルスは 246~433 塩基からなる環状 1 本鎖 RNA で、植物特有の最小の病原体として知られている。ウイルスの配列にはタンパク質がコードされていないため、侵入した宿主細胞内の酵素に全て依存して自律複製し、最初に発見されたジャガイモやせいもウイルス (PSTVd) は、ジャガイモの他トマト (*Solanum lycopersicum*) に深刻な病害をもたらす。本研究では、PSTVd 側と宿主トマト側の両面から病徴発現に関する要因を解析した。以下に主要な研究成果を要約する。

### 1. PSTVd の線状 1 量体 RNA による感染系の確立

PSTVd の 2 量体 cDNA クローンから転写した線状 2 量体 RNA は高い感染性を示し、これまで逆遺伝学的研究に多く用いられてきた。しかし、人為的に変異を導入した感染性 RNA を作製するには、通常 1 量体 cDNA クローンに変異を導入してから 2 量体 cDNA クローンを作製し、その後転写する必要がある、時間と労力を要した。そこで本研究では、非ウイルス配列を含まない正確に 1 量体である線状 RNA を cDNA クローンから転写し、その RNA が線状 2 量体 RNA と同程度もしくはそれ以上の感染性を示すことを明らかにした。本研究結果は、今後の PSTVd の逆遺伝学研究に大いに貢献するものとして高く評価できる。

### 2. 宿主トマト側における病徴発現に関わる要因の解析

トマト品種 'Rutgers' での病原性が異なる中間系統 PSTVd-Intermediate (Int) 株と致死系統 PSTVd-AS1 株をさまざまなトマト品種や野生種に接種し、その反応を調べた。その結果、PSTVd に感染しないものは見出せず、近縁野生種の大部分の種または系統は PSTVd 感染で発病し、一部は特徴的な病徴を示した。しかし、*S. pimpinellifolium* LA0373 と LA0411 及び *S. chmielewskii* LA1028 は致死系統 PSTVd-AS1 感染でも病徴が認められない強い耐病性を示した。そして、PSTVd 系統間の病原性差異が PSTVd 感受性植物で顕著に認められたのに対し、PSTVd 耐病性植物ではほとんど認められなかったことから、トマトにおける病徴発現は、

PSTVd 側の病原性決定要因とトマト側の発病要因の相互作用であることが明確になった。

PSTVd 耐病性の *S. pimpinellifolium* LA0373 または *S. chmielewskii* LA1028 と感受性野生トマトとの交配後代を作出して PSTVd-AS1 を接種した結果、それぞれの F1 雑種は耐病性を示したことから、これらの耐病性はいずれも顕性形質と考えられた。また、これらの耐病性は感染初期における PSTVd の蓄積量が低く抑えられていることによるものと考えられた。栽培トマトにより近縁な *S. pimpinellifolium* LA0373 の耐病性に関して、F1 を自殖して得た F2 集団で解析した結果、少なくとも 4 つの発病パターンが認められ、全体の約 63% が PSTVd-AS1 に感染しても発病しなかった。このことから、この耐病性は寄与の大きな主働遺伝子と寄与の小さなその他の微働遺伝子によって支配される量的形質である可能性が示唆された。本研究成果は、PSTVd に耐病性を示すトマトを育種する上で重要な知見であり、高く評価できる。

なお、RNA サイレンシングの重要な因子である RNA 依存 RNA ポリメラーゼ 6 (RDR6) の発現と PSTVd 耐病性との関連を形質転換トマトで調べた結果、両者に関連性は認められなかった。しかし、トマトの茎頂分裂組織 (SAM) への PSTVd 侵入を調べたところ、RDR6 の発現抑制によって PSTVd 2 系統がほぼ同程度、同率に SAM 基部へ侵入したことから、RDR6 は、SAM 基部への PSTVd 侵入を抑制する上で重要であることが示された。

### 3. PSTVd 側の病原性決定要因の解析

PSTVd-Int と PSTVd-AS1 は二次構造上の病原性調節 (VM) 領域内の 4 塩基のみが異なる。その変異により、VM 領域内に位置する PSTVd-Int の第 7 ステム中の 315 番塩基 C が PSTVd-AS1 ではバルジグループとなる。そこで、PSTVd-AS1 における強毒化要因を解明するため、PSTVd の病原性と VM 領域の二次構造との関係を詳細に解析した。PSTVd-Int と PSTVd-AS1 の間の塩基置換変異体 6 種と第 7 ステムの二次構造を変化させる変異体 14 種を作製し、トマト品種 'Rutgers' へ接種して病原性の比較、解析を行った。その結果、PSTVd の病原性を決定する要因は複雑であるものの、少なくとも第 7 ステムにおける 315 番塩基 C または A のバルジグループが致死の病原性に関連付けられた他、予想外に 313 番塩基 A と 314 番塩基 C のバルジグループが弱毒の病原性に関連付けられた。また、感染初期における PSTVd 蓄積量と病原性に相関が認められた。

さらに、PSTVd の病原性とトマト品種 'Rutgers' における壊疽病徴と遺伝子の発現変動の関係を調べた結果、感染している PSTVd の病原性が強く葉における壊疽が激しいほど活性酸素種の蓄積量が多く、ストレス応答性の miR398 および miR398a-3p の発現が高かった。そして、miR398a-3p の発現は予測ターゲット遺伝子である活性酸素分解酵素をコードする *SOD3* mRNA の発現と負の相関を示した。したがって、VM 領域内の第 7 ステムの二次構造変化による PSTVd 蓄積量の変化に伴い、宿主トマトの活性酸素種の代謝及び関連遺伝子の発現が変動することで病徴が変化すると考えられた。

本研究成果は、PSTVd 変異株における強毒化機構を明らかにする上で重要であるのみならず、弱毒化 PSTVd ワクチンの開発などウイロイド病防除への応用が期待されるものとして評価できる。

よって、審査員一同は、直井崇が博士 (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。