



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on cucumber mosaic virus resistance conferred by an in-frame deletion in genome-edited tomato eIF4E1
Author(s)	GHOS, Sozib
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第16587号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16587
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98197
Type	doctoral thesis
File Information	GHOS_Sozib_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



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 GHOS Sozib

審査担当者	主査	准教授	佐藤 昌直
	副査	教 授	浅野眞一郎
	副査	教 授	松浦 英幸
	副査	講 師	中原 健二

学位論文題名

Study on cucumber mosaic virus resistance conferred by an in-frame deletion
in genome-edited tomato *eIF4E1*

（トマト *eIF4E1* のゲノム編集によるインフレーム欠失変異により付与される
キュウリモザイクウイルス抵抗性に関する研究）

本論文は英文 71 頁、図 7、表 9、2 章からなり、参考論文 1 編が付されている。

本論文は、新規なキュウリモザイクウイルス（CMV）抵抗性機構の解明を目的として行われた。これまで、翻訳開始因子 *eIF4E* は宿主に必須であるとともに、多くの RNA ウイルスの感染・増殖に必要な感受性因子であることが知られていた。しかし *eIF4E1* 遺伝子をゲノム編集したトマトにおいて、従来の説明では理解できない CMV 抵抗性が見出された。すなわち、1 塩基挿入による遺伝子破壊変異体では抵抗性が付与されない一方、9 塩基対のインフレーム欠失（9DEL）変異体では抵抗性が付与されるという現象である。これは、9DEL 対立遺伝子に由来する変異型 *eIF4E1* タンパク質（*eIF4E1_9DEL*）が、CMV 抵抗性を誘導する可能性を示唆している。本研究では、分子生物学的な手法により、この新規な CMV 抵抗性の分子機構解明を試みた結果をまとめたものである。

1) 変異 *eIF4E1* タンパク質と CMV の 2b タンパク質の相互作用

編集トマト細胞で発現する *eIF4E1_9DEL* が CMV のタンパク質に直接結合してその機能を阻害することで CMV 感染を抑制している可能性が検討された。酵母ツーハイブリッド法により、*eIF4E1_9DEL* と CMV タンパク質が結合するか検討したところ、2b タンパク質と酵母内で結合することが見出されたと述べている。さらに、2b と *eIF4E1_9DEL* を *Nicotiana benthamiana* 葉でアグロインフィльтраーション法により一過的に共発現して、両者が植物細胞内でも結合することを split-luciferase complementation assay により確かめている。一方で、2b の C 末端領域に変異を持つユリ分離株由来の 2b や、C 末端を欠失した 2b とは結合しないことを酵母ツーハイブリッド法で示すことで、*eIF4E1_9DEL* との結合において 2b の C 末端領域が重要であることを述べている。そして、これらの結果から *eIF4E1_9DEL* は CMV の 2b と結合すると結論している。

2) 変異 eIF4E1 による 2b 機能阻害による CMV 抵抗性

eIF4E1_9DEL と 2b の結合が CMV 抵抗性付与に関わっているとすれば、その結合が 2b の機能に阻害的に働いていると仮説を立て、その可能性について検証が進められた。2b は、植物の主要なウイルス防御機構である RNA サイレンシングを抑制する機能を有することが知られている。そこで、2b の RNA サイレンシング抑制活性が eIF4E1_9DEL で阻害されるのか、*N. benthamiana* を用いた一過発現系で、GFP 蛍光強度とウエスタンブロット解析により検討された。その結果、eIF4E1-9DEL は 2b の RNA サイレンシング抑制による GFP 蛍光の増強効果を優位に阻害することが示されたと述べている。一方で、野生型 eIF4E1 はこの効果を示さなかったことから、eIF4E1_9DEL は 2b に結合し、RNA サイレンシング抑制を含む 2b の機能を阻害していることが考察されている。そして、2b を欠損した変異 CMV (CMV Δ 2b) を *N. benthamiana* とトマトに接種したところ、CMV Δ 2b は *N. benthamiana* には全身感染して発病したが、トマトには全身感染して発病できないことが示されている。すなわち、CMV のトマトに対する病原性に 2b が必須であると解釈される。以上の解析から、9DEL による CMV 抵抗性は、9DEL トマトで発現する変異 eIF4E1 が 2b の機能を阻害することで付与されていると結論している。

本研究は、インフレーム欠失変異による宿主遺伝子改変が、遺伝子破壊では得られない新たなウイルス病抵抗性の付与に有効であることを分子レベルで実証したものであり、抵抗性育種における新たな戦略として高く評価される。よって、審査員一同は、Sozib Ghos が博士（農学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。