

ウイロイドワクチンの開発に向けた基礎的研究

京都大学大学院農学研究科・助教 鍋島 朋之

■ 目 的

ウイロイドは、植物に感染して病害を引き起こす全長 300-400 塩基程度の環状一本鎖 RNA である。本研究では、干渉効果を利用したウイロイド防除技術、すなわち“ウイロイドワクチン”の開発を目指した基礎研究を行った。干渉効果は、あるウイルスの感染が同種のウイルスの二次的な感染を抑制する現象であり、ウイロイドにおいても干渉効果が報告されている。農業的にウイロイドの干渉効果を利用するためには弱毒株の選抜が不可欠であるが、ウイロイド配列上の病原性決定配列には不明な点が多く、ウイロイド同士の干渉効果の成立条件も明らかとなっていない。本研究では主にシソ科を宿主とするが、深刻な病害を引き起こさない *Coleus blumei viroid 1* (CbVd)、主にキクを宿主とし、矮化などの深刻な病徴を引き起こす *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd)、およびこれらのキメラウイロイドを用いて *Nicotiana benthamiana* における感染性・病原性と、干渉効果の有無について検討した。

■ 方 法

CbVd および CSVd の配列を左腕、中央部および右腕の 3 要素に分割し、それぞれの要素を組み合わせて 6 通りのキメラウイロイドを設計した。これらの *in vitro* 転写 RNA を 2 週齢の *N. benthamiana* にカーボランダムを用いて機械接種した。また、干渉効果を検討するために、上述と同様に 2 週齢の植物体に CbVd あるいは CbVd 配列を中央部、CSVd 配列を右腕と左腕に持つキメラウイロイド (chimera 9) の RNA 溶液を機械接種し、3 日後に 1 回目の接種葉に 1 回目とは異なるウイロイド RNA を同様の方法で接種した。いずれの実験においても、接種から 2 週間後に主茎の上から 3 枚目の展開葉におけるウイロイドの感染を Reverse transcription-polymerase chain reaction により確認した。

■ 結果および考察

CbVd、CSVd および作成した 6 種のキメラウイロイドの全てにおいて *N. benthamiana* に対する感染性を確認し、CbVd-chimera 9 間では干渉効果の成立を認めた。この結果から、同種のウイロイドでは無く、中央部のわずか 60 塩基程度を共有する配列同士でも干渉効果が成立し得ることがわかった。また、CSVd に感染した *N. benthamiana* では病徴が見られなかったが、CbVd に感染した植物体では葉に黄斑が発達し、同様の黄斑は chimera 9 感染個体でも確認された。CbVd 感染が *N. benthamiana* に病徴を引き起こしたことは予想外であったが、この観察から *N. benthamiana* に黄斑を発達させる配列が CbVd の中央部に存在することが示唆された。今後は、今回の実験で作出したキメラウイロイドを利用して種々の作物種における病原性と病原性因子の存在箇所とを整理すると共に、病原性を各宿主における増殖や移行などのウイロイドの基本機能と分離できるかどうかを検討していきたい。

■ 結 語

CbVd と CSVd の配列を組み合わせ、*N. benthamiana* に対して感染性を持つキメラウイロイドを 6 種類作出した。作出したキメラウイロイドのうち、1 種では野生種 CbVd との干渉効果が確認された。本実験によって、人工 RNA 分子を利用したウイロイドの感染抑制技術の開発に見通しが立った。