

## ゲノム改変によるウイルス抵抗性作物創出に向けた基礎研究

30007A

分野

農業一病害虫

適応地域

全国

〔研究グループ〕

農研機構生物機能利用研究部門、

タキイ種苗株式会社

〔研究統括者〕

農研機構 石川 雅之

〔研究期間〕

平成30年～令和2年(3年間)

キーワード: トマト、tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)、トマト黄化えそウイルス (TSWV)、抵抗性、宿主因子

## 1 研究の目的・終了時の達成目標

トマトにおいて広く利用されてきたトバモウイルス抵抗性遺伝子 *Tm-2* が効かない新種のトバモウイルス ToBRFV、あるいは TSWV 抵抗性遺伝子 *Sw-5* を打破した TSWV 変異株が出現し、蔓延しつつある。本研究は、有効な抵抗性遺伝子がないこれらのウイルスに対する新規抵抗性遺伝子を得ることを目的とする。本ステージでは、これらのウイルスの効率のよい増殖に必須なトマトの遺伝子を同定し、その破壊によりウイルス抵抗性が付与されるかを明らかにすることを目標とした。

## 2 研究の主要な成果

- ① シロイヌナズナの *TOM1* 遺伝子はトマトモザイクウイルスをはじめとするトバモウイルスの効率のよい増殖に必須である。トマトの4個の *TOM1* 遺伝子ホモログ(シロイヌナズナの *TOM1* と相同な遺伝子)それぞれにゲノム編集(CRISPR/Cas9法)を用いて機能欠損変異を導入し、変異をあらゆる組み合わせでホモにもつトマト系統を作出した。
- ② これらのトマト系統のうち、特定の3個の *TOM1* 遺伝子ホモログあるいは4遺伝子全てに変異をもつ系統が強力な ToBRFV 抵抗性を示すことを明らかにした(図1)。
- ③ 出芽酵母を利用した TSWV RNA 複製系による絞り込みで獲得した73個の候補遺伝子から、ベンサミアナタバコにおいてノックダウン(発現抑制)すると TSWV の増殖効率が低下する遺伝子を15個同定した(図2)。
- ④ 当該候補遺伝子から、トマトにおいて CRISPR/Cas9 法を用いて機能欠損変異を導入すると TSWV による病徴が緩和される遺伝子を1個同定した。他の多くの候補遺伝子は破壊すると植物の生育を阻害した。

## 公表した主な特許・論文

- ① 特許第6810946号「トバモウイルス抵抗性トマト植物、トバモウイルス抵抗性トマト植物の生産方法、トマト植物におけるトバモウイルス抵抗性の付与方法、トバモウイルス抵抗性トマト植物のスクリーニング方法およびトマト植物におけるトバモウイルス抵抗性の検出方法」(出願人: 農研機構・タキイ種苗)

## 3 今後の展開方向

- ① 遺伝子組換え技術によらない「KeyPoint technology」を利用して、4個のトマト *TOM1* 遺伝子ホモログに機能欠損変異を導入し、これらを集積して ToBRFV 抵抗性品種を作出する。(担当: タキイ種苗)
- ② TSWV については、トマトの生育は阻害することなく TSWV の増殖を阻害する変異を探索・同定するとともに、変異の集積による TSWV 増殖抑制効果の増強を図る。

## 【今後の開発目標】

- ① 2年後(2022年度)は、KeyPoint technology で得た変異を集積した系統を作出し、抵抗性評価を開始する。
- ② 5年後(2025年度)は、ウイルス抵抗性の実用試作品種を作出する。
- ③ 最終的には、開発した抵抗性遺伝子を商用トマト品種に標準装備し、ToBRFV、TSWV の被害を抑制する。

## 4 開発した技術シーズ・知見の実用化により見込まれる波及効果及び国民生活への貢献

- ① ToBRFV あるいは TSWV 抵抗性トマトの普及により、日本国内産出額2,434億円(H26年度; 国内野菜トップ)を誇るトマトの安定した高生産性と品質の向上に加え、当該ウイルスの防除に費やされていたコストの低減が見込める。また、種子生産者にとっては、当該種子への付加価値による利益が見込める。さらに、本成果は他の作物へのウイルス抵抗性付与にも応用できる可能もある。
- ② 高品質なトマトの低価格で安定した供給に貢献する。

# (30007A)ゲノム改変によるウイルス抵抗性作物創出に向けた基礎研究

## 研究終了時の達成目標

有効な抵抗性遺伝子がないトマトの病原ウイルス (ToBRFV, TSWV) に対する新規抵抗性遺伝子を、ウイルス増殖関連宿主因子遺伝子の改変により開発する。

## 研究の主要な成果

シロイヌナズナでトバモウイルスの効率のよい増殖に必須

- ① 4個のトマト *TOM1* 遺伝子ホモログをCRISPR/Cas9法で破壊した。これらの変異をホモにもつ4重変異体 (*tom1* 4重変異体) は強力なToBRFV抵抗性を示した (図1)。

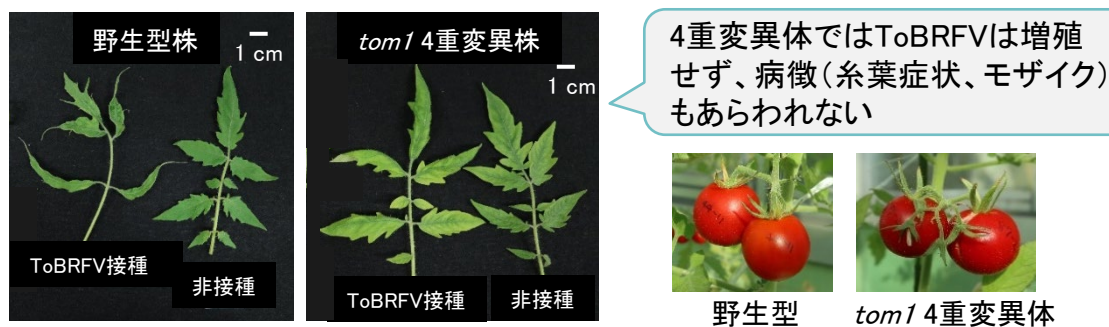


図1 野生型および *tom1* 4重変異トマトの果実(右)とToBRFV接種後の病徴(左)

- ② トマト *tom1* 4重変異体はほぼ正常に生長し、結実した (図1)。
- ③ 出芽酵母を利用した解析で挙げた候補遺伝子から、破壊すると宿主の生育に大きな影響を与えることなくTSWVによる病徴を緩和させるトマトの遺伝子を同定した (図2)。



図2 TSWV RNAの効率のよい複製に必要なトマト遺伝子の探索

## 今後の展開方向

- ① 遺伝子組換え技術によらない「KeyPoint technology」を利用して、*TOM1* 遺伝子ホモログを破壊し、ToBRFV抵抗性トマト品種を作出する。(担当:タキイ種苗)
- ② 植物の生育を阻害することなくTSWVの増殖を阻害する変異を探索・同定するとともに、変異の集積によるTSWV増殖抑制効果の増強を図る。

## 見込まれる波及効果及び国民生活への貢献

- ① 主要なウイルス病害の防除が可能に
  - ② ウイルスの防除に費やされていたコストの低減
- ⇒ 安価・高品質トマトの安定供給