

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月25日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21380032

研究課題名（和文）カプシム属植物トバモウイルス抵抗性遺伝子の階層的ウイルス認識の分子基盤

研究課題名（英文）Molecular basis of the hierarchical recognition of viruses by the alleles of tobamovirus resistance gene from *Capsicum* plants

研究代表者

小林 括平（KOBAYASHI KAPPEI）

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：40244857

研究成果の概要（和文）：植物は病原体を認識し、抵抗性を示すが、病原体は突然変異によってその認識を回避する場合がある。本研究ではカプシム属植物から単離した数種類のウイルス抵抗性遺伝子を用い、植物がウイルスを認識する仕組みを明らかにすることを試みた。異なるウイルスを認識できる抵抗性遺伝子の組換え体を用い、認識するウイルスの種類を決定している領域を明らかにした。また、野生タバコから類似の抵抗性遺伝子を新規に単離した。

研究成果の概要（英文）：Plants recognize pathogens to resist pathogen infection, but some pathogens escape the recognition by mutation. In this study, the mechanism for virus recognition by plants was studied using several alleles of virus resistance gene from *Capsicum* plants. Recombination between resistance genes recognizing different sets of viruses revealed the region determining the recognition specificity. In addition, an similar virus resistance gene was isolated from a wild tobacco species.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
2010年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2011年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：植物・ウイルス・抵抗性・認識・相互作用

1. 研究開始当初の背景

植物病害のうち、ウイルスによるものについては有効な薬剤が存在しないため、その防除は抵抗性品種の利用に大きく依存している。しかし、ウイルスは変異を起こしやすく、抵抗性を打ち破る変異体、すなわち抵抗性打破ウイルスの出現が農業生産現場で問題となっている。我々は、抵抗性打破ウイルスに対して有効かつ、抵抗性打破ウイルスの出現を抑制できる新規抵抗性遺伝子を創出する基盤を形成する目的で、ピーマン、トウガラ

シ等のカプシム属植物のトバモウイルス抵抗性遺伝子Lについて、複数のアレル（対立遺伝子）をクローン化した。

Lには以前からL¹、L²など複数のアレルが存在することが知られており、それぞれL¹遺伝子型、L²遺伝子型などと呼称されてきた。Lの遺伝子型とトバモウイルスの病原型の間には、表1に示す階層的な関係があること、すべてのL遺伝子産物がトバモウイルス外被蛋白質（CP）を認識して抵抗反応を起こすことが知られている。

表 1. *L* 遺伝子型とトバモウイルス病原型間の階層的関係

遺伝子型 (アレル)	トバモウイルス病原型				
	P ₀	P ₁	P _{1,2}	P _{1,2,3}	P _{1,2,3,4}
ℓ	×	×	×	×	×
L ¹	○	×	×	×	×
L ¹	○	○	×	×	×
L ¹	○	○	○	×	×
L ¹	○	○	○	○	×

×, 感受性 (全身感染が起こる); ○, 抵抗性.

このような階層的な関係を成立させる遺伝子の構成として、各 *L* 遺伝子型はそれぞれ 1 種類の蛋白質をコードしており、それらが単独で階層的な認識を行う、すなわち各 *L* 遺伝子型で認識スペクトルが異なるというモデルと、それぞれのトバモウイルス病原型に対応する抵抗性遺伝子が個別に存在し、各 *L* 遺伝子型はそれらを単独もしくは組み合わせて持っているとするモデルが考えられた。我々は *L*³ 遺伝子の精密マッピングを行い、*Nicotiana benthamiana* における一過性発現およびタバコの安定形質転換体で *L*³ 遺伝子を同定した。クローン化した *L*³ 遺伝子は、多くの病害抵抗性遺伝子に見られる coiled-coil (CC)、nucleotide binding site (NB) および Leucine-rich repeat (LRR) の各ドメインからなる、いわゆる CC-NB-LRR 型の病害抵抗性蛋白質をコードしていた。種々のトバモウイルス病原型の CP との共発現実験において表 1 に示す階層性を再現した。また、*L*¹、*L*² および *L*⁴ の各遺伝子型についても *L*³ と相同な遺伝子をそれぞれ異なる植物種からクローン化し、同様な実験でそれぞれが単独で階層的な認識能を規定していること、すなわち各 *L* 遺伝子型がそれぞれ異なる認識スペクトルを示すことを明らかにした。しかし、クローン化した各遺伝子型の構造を比較するだけでは、階層的な認識がどのようにして行われているかを明らかにすることはできない。

ピーマンやトウガラシなどのカプシクム属作物では、生産現場において抵抗性打破ウイルスが出現し、甚大な被害をもたらしている。この抵抗性打破のメカニズムを詳細に理解するとともに、抵抗性打破されない新規抵抗性遺伝子を開発する基盤を形成するためには、*L* 遺伝子産物 (*L* タンパク質) によるトバモウイルス CP 認識のメカニズムを詳細に理解する必要があると考えた。*L* 遺伝子には上述のように複数のアレルが存在し、さらにそれらの認識には表 1 に示した階層性が認められる。すなわち、*L* 遺伝子の各アレルに

コードされる抵抗性タンパク質は、それぞれ異なる認識スペクトル (認識範囲) を示す。この *L* 遺伝子の特性は、認識機構の研究において非常に有用であり、広く植物病害抵抗性タンパク質による病原体認識機構を考えるうえでも、有用な知見を与えるものと期待される。

2. 研究の目的

(1) すでに単離済みの各 *L* 遺伝子型がそれぞれ単独で異なる認識スペクトルを示すことを明らかにしている。そこで、各遺伝子型間のキメラの作製および点変異導入によって認識スペクトルを決定する *L* 蛋白質の構造を特定する。

(2) *L* 蛋白質とトバモウイルス CP の相互作用様式を解析する。

① 各遺伝子型 *L* タンパク質と各病原型トバモウイルス CP の相互作用の有無を明らかにする。相互作用が認められた場合、その強さが認識スペクトルを決定する主たる要因であるか否かを明らかにする。

② *L* タンパク質とトバモウイルス CP の相互作用に関与する *L* タンパク質のドメイン構造を明らかにする。

③ *L* タンパク質とトバモウイルス CP の相互作用に関与する第三のタンパク質を探索し、*L* タンパク質による CP 認識における役割を解析する。

3. 研究の方法

(1) *L* 遺伝子アレル間のキメラ形成と点変異導入による認識スペクトルを決定する構造の特定

これまでにクローン化した 7 種類の *L* 遺伝子アレルにコードされる抵抗性タンパク質は、相互に 97% 以上のアミノ酸同一性を示す。それらの間の多型は、ほぼ C 末端側 1/3 に集中していることから、それぞれの遺伝子型の認識スペクトルをこの領域が規定していることが推察される。そこでまず、各 *L* 遺伝子型間のキメラを作製し、認識スペクトル決定領域を特定する。さらにこの領域中にある繰り返し配列中の溶媒に露出されている、すなわち他の蛋白質との相互作用に関与すると考えられるアミノ酸残基を *L* 遺伝子型間で置換し、認識スペクトル決定に与るアミノ酸残基を特定する。キメラおよび変異型 *L* 遺伝子の機能解析は、これまで *L* 遺伝子の同定・解析に使用している *N. benthamiana* を用いた一過性発現系における過敏感細胞死誘導を指標として行う。

(2) *L* 蛋白質への免疫タグの挿入

本研究までの検討から、*L* 蛋白質の N および C 末端のいずれにも蛋白質検出のための免疫タグを、遺伝子機能を損なわずに付加することはできなかった。そこで、*L* 蛋白質の様々

な箇所にて6アミノ酸を挿入した変異Lタンパク質を12種類作製し、その機能の有無を検討したところ、6アミノ酸の挿入によって機能障害の生じない部位を8か所見いだすことができた。そこで、それらの挿入変異に耐性の部位に対してHA、c-MycおよびFLAG等の免疫タグを挿入し、抵抗性タンパク質のウェスタンブロッティングによる検出の可否とその機能への影響を明らかにする。

(3) 免疫共沈法によるLタンパク質-トバモウイルスCP相互作用の解析

免疫タグを付加したL3タンパク質とPO-CPを*N. benthamiana*で共発現し、2-3日後に非変性条件下で抗タグ抗体を用いて免疫沈降を行う。沈降物を抗CP抗体を用いたウェスタンブロッティングによって解析し、Lタンパク質とCPの相互作用の有無を明らかにする。相互作用が確認できた場合は、種々の病原型およびL遺伝子型の組み合わせで同様な検討を行い、免疫共沈法によって検出される相互作用と認識スペクトルの相関を明らかにする。

(4) 酵母ツーハイブリッド法(Y2H)によるLタンパク質と相互作用する蛋白質の探索
N. benthamiana およびL³遺伝子を持つトウガラシ(*Capsicum chinense* PI 159236)からmRNAを抽出し、酵母ツーハイブリッド法用のcDNAライブラリーを作製する。このcDNAライブラリーを、Lタンパク質のCCドメインを用いてスクリーニングし、これと相互作用するタンパク質をコードするcDNAクローンを単離する。

4. 研究成果

(1) 各L遺伝子アレル間のキメラ解析による認識スペクトル決定ドメインの特定

L遺伝子アレル間でキメラを作製し、トバモウイルスCP認識スペクトルを決定しているドメインを特定した。最も認識スペクトルの

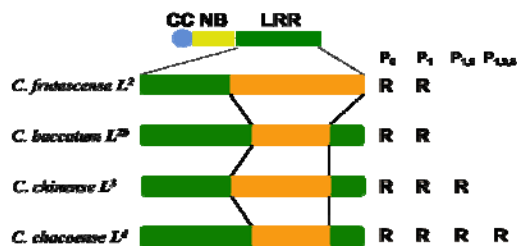


図1. L遺伝子の広スペクトル認識に必要な各遺伝子型のLRR領域

LRRドメインを緑で、広スペクトル認識に必要な領域を橙色で示す。P₀、P₁、P_{1.2}およびP_{1.2.3}はトバモウイルス病原型を示す。認識されるCPをRで示す。

狭いL¹遺伝子とその他の遺伝子型との間のキメラを作製し、それらの認識スペクトルを一過性発現系において検討した。その結果、

L²、L^{2b}、L³およびL⁴の広い認識スペクトルに必要な領域は、LRRドメインのC末端側約550アミノ酸残基の領域に含まれ、それぞれの遺伝子型で異なることが示された(図1)。このことは、それぞれのLタンパク質の複数の領域が認識に関与し、認識スペクトルに影響をお呼びしていることを示唆する。

次に、図1において橙色で示した広スペクトル認識に必要な領域に含まれ、かつ、xxLxLxxモチーフの溶媒に露出されていると考えられるアミノ酸残基に着目した。Lタンパク質の1127番目のアミノ酸残基は、L¹、L²およびL³ではアスパラギン、L^{2b}ではヒスチジンであり、L⁴ではアルギニンである。この座位のアミノ酸の陽性荷電と認識スペクトルの間に正の相関が認められることから、この座位に変異を導入し、認識スペクトルへの影響を検討した。その結果、上述の傾向が確認されたが、L³において同座位をアルギニンに変化させても認識スペクトルはL⁴と同様であった。以上を併せ考えると、Lタンパク質の認識スペクトルは、複数のxxLxLxxモチーフがそれぞれ種々のトバモウイルスCPと直接または間接的に相互作用し、その相互作用の総和が認識の成否を決定しているという仮説が導かれた。

(2) Lタンパク質への免疫タグの挿入

Lタンパク質とトバモウイルスCPの相互作用を解析するために必須のツールとして、Lタンパク質に免疫タグを導入した。上述のようにN-およびC-末端のいずれに免疫タグを付加した場合にもLタンパク質の機能は完全に消失した(図2)。

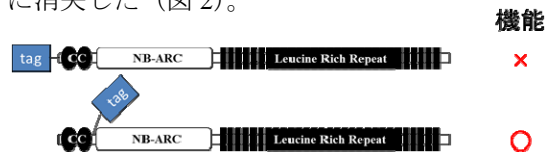


図2. Lタンパク質への免疫タグの導入

しかし、CCドメインとNBドメインの間の領域で、二次構造予測においてターンが予測される領域、2か所ではLタンパク質の機能をほとんど損なうことなくHA、FLAGおよびc-Mycタグを挿入することができた。

(3) 免疫共沈法によるLタンパク質-トバモウイルスCP相互作用の解析

免疫タグを付加したL³タンパク質と各種トバモウイルスCPを*N. benthamiana*で共発現し、免疫共沈法によってこれらタンパク質間の相互作用の有無を検討した。当初、CPの検出には、ウイルス粒子に対する抗体を用いていたが、検出感度が不十分であったため、c-Mycタグを7コピー融合させたCP発現系

を構築した。これを用いた結果、過敏細胞死を誘導する組合せでは免疫共沈降が観察され、Lタンパク質とCPの間の物理的な相互作用が証明された。また、(1)において決定した認識スペクトルを決定する領域を L^1 、 L^2 、および L^4 と交換することによって、それぞれと同じ認識スペクトルを持ち、かつ免疫タグを挿入されたキメラLタンパク質発現ベクターを構築し、各アレルのコードするLタンパク質とタバコウイルスCPの相互作用を検討した。その結果、 L^3 タンパク質に関する解析と同様に過敏細胞死を誘導する組合せでは免疫共沈降が観察され、Lタンパク質とタバコウイルスCPの物理的な相互作用が、Lタンパク質によるCP認識の分子的な基盤となっていることが示された。

(4)Lタンパク質の変異体を用いたLタンパク質-タバコウイルスCP間の物理的相互作用とCP認識との相関に関する解析

上述のように、L遺伝子のアレル間の比較においては、Lタンパク質とタバコウイルスCPの物理的な相互作用が、Lタンパク質によるCP認識の成否を決定する分子基盤となっていることが示された。この点についてさらに詳細に解析する目的で、 L^4 の持つ32個のxxLxLxxモチーフをxALALAxに置換した変異タンパク質シリーズを作製し、まず、CP認識スペクトルへの影響を検討した。LRRのN末端側1/3領域内のxxLxLxxモチーフに変異を導入したものは、すべてウイルス認識能を失っていた。一方、C末端側2/3領域内のxxLxLxxモチーフに変異を導入したものでは、認識範囲の狭小化が認められ、上位の病原型に分類されるウイルスのCPから認識できなくなった。さらに、複数の変異を組合せることによって認識範囲のさらなる狭小化が認められた。それら多重変異Lタンパク質では、認識可能なCPに対しても変異の数に比例して細胞死誘導能が弱まり、これと相関して免疫共沈降法で検出されるLタンパク質-CP間相互作用も低下していることが観察された。以上の結果から、CPと複数のxxLxLxxモチーフとの間の相互作用の総和が、Lタンパク質の認識スペクトルを決定することが示唆された。

(5)Lタンパク質と相互作用する植物タンパク質の探索

Lタンパク質のCP結合ドメインを特定する目的で、CC-NBドメインあるいはLRRドメインに分けてCPと共発現し、免疫沈降法によってL-CP間相互作用の検出を試みた。その結果、認識スペクトルを規定するLRRドメインもその他のドメインも単独ではCPと相互作用しなかった。すなわち、Lタンパク質は全長分子でなければCPと相互作用しない

こと、および、CCおよび/またはNBドメインもCPとの相互作用に何らかの役割を果たしていることが示唆された。これまでに解析された抵抗性タンパク質では、CCなどのN-末端側ドメインと相互作用する第三のタンパク質が病原体タンパク質の認識に重要な役割を果たしていることが報告されている。そこでLタンパク質と相互作用する第三のタンパク質を同定することを目的とし、Y2Hスクリーニングを行った。

N. benthamiana および *C. chinense* PI 159236 の cDNA ライブラリーから L タンパク質の CC ドメインと相互作用するタンパク質をコードするものとして、2種類の cDNA が複数回ずつ単離された。そのうちの一方は機能未知のタンパク質であり LIPM1 と名付けられた。もう一方の LIPM2 は、Thylakoid formation 1 (ThF1)として報告されているものと同一であった。これらの遺伝子のそれぞれまたは両方を、リンゴ小球形潜在ウイルス (ALS) ベクターを利用して RNA サイレncing を誘導することによって発現抑制し、Lタンパク質の機能に対する影響を検討した。その結果、LIPM1 および LIPM2 のいずれかを発現抑制した場合にも、Lタンパク質によって CP 依存的に誘導される細胞死が早まることが明らかになった。このことは、これらのタンパク質が L タンパク質による CP 認識、あるいはその後の抵抗性シグナルの伝達に関与していることを示唆する。

(6)N遺伝子の単離とL遺伝子との比較解析

Nicotiana sylvestris の N 遺伝子は、L 遺伝子と同様にタバコウイルスの CP を認識し、TMV に対しては抵抗性を示さないが、ToMV、PaMMV および PMMoV を含むさまざまなタバコウイルスに対して抵抗性を示す。N 遺伝子および L 遺伝子群が構造的に保存されている可能性が指摘されていたことに加え、L 遺伝子アレル間で N-および C-末端領域が完全に保存されていたことから、L 遺伝子全長の増幅に用いたプライマーセットで N 遺伝子の増幅を試みた。増幅された約 4 kb の DNA 断片をクローニングし、全塩基配列を決定したところ、L 遺伝子と 68.7% のアミノ酸配列同一性を示す CC-NB-LRR 型抵抗性タンパク質をコードする遺伝子が得られた。この遺伝子について一過性発現系を用いた機能解析を行ったところ、N 遺伝子の認識スペクトルを再現することが示され、得られた遺伝子が N 遺伝子そのものであることが示された。

N 遺伝子と L 遺伝子とのキメラ遺伝子を作製し、その認識特異性を N および L 遺伝子と比較した。その結果、やはり LRR ドメインが認識特異性の決定に重要な役割を果たしていることが示された。しかし、L 遺伝子アレル間のキメラ解析の場合とは異なり、LRR

ドメイン内の相同領域で組換えた L₂N₁キメラのうち、いくつかは完全に機能を喪失していた。このことから、これら2つの抵抗性遺伝子は、共通の祖先から進化し、同じトバモウウイルスを認識するという機能を保持してはいるものの、そのタンパク質のサブドメイン構造レベルでは機能分化が起こっており、それゆえに異なる認識特異性を示すと考えられた。

上述のように、本研究ではトバモウウイルスのCPを認識する抵抗性遺伝子、NB-LRR型のLおよびN遺伝子について解析し、LRRドメインがCPの認識に重要な役割を果たすことを明らかにした。また、Lタンパク質のCCドメインと相互作用するタンパク質としてLIPM1および2を単離した。これらは発現抑制法によってLタンパク質機能に関与することが示唆された。これらの成果は、今後新たな抵抗性遺伝子を開発するうえで重要な基礎的知見となる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① Sekine, K.-T., Tomita, R., Takeuchi, S., Atsumi, G., Saitoh, H., Mizumoto, H., Kiba, A., Yamaoka, N., Nishiguchi, M., Hikichi, Y. and Kobayashi, K. (2012) Functional differentiation in the LRR domains of closely related plant virus resistance proteins that recognize common Avr proteins. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. (印刷中) (査読あり)
- ② Kobayashi K., Atsumi G., Yamaoka N. and Sekine K.-T. (2012) Sequencing-based Virus Hunting and Virus Detection. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 46, 123-128. (査読あり)
- ③ Nishiguchi, M. and Kobayashi K. (2011) Attenuated plant viruses: preventing virus diseases and understanding the molecular mechanism. *Journal of General Plant Pathology*. 77, 2217-229. (査読あり)
- ④ 小林括平・山岡直人・西口正通・関根健太郎 (2011) トウガラシ属植物のトバモウウイルス抵抗性遺伝子 L の単離と機能解析, 植物防疫, 65, 239-243. (査読なし)
- ⑤ Tomita, R., Sekine, K.-T., Mizumoto, H., Sakamoto, M., Murai, J., Kiba, A., Hikichi, Y., Suzuki, K. and Kobayashi, K. (2011) Genetic basis for the hierarchical interaction between tobamovirus spp. and L resistance gene alleles from different pepper species. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 24, 108-117. (査読あり)
- ⑥ Schepetilnikov M, Kobayashi K., Geldreich A, Caranta C, Robaglia C, Keller M and Ryabova LA (2011) Viral factor TAV recruits TOR/S6K1 signalling to activate reinitiation after long ORF translation. *EMBO Journal* 30, 1343-1356. (査読あり)
- ⑦ 小林括平・富田麗子・坂本 勝・関根健太郎 (2010) ナス科植物トバモウウイルス抵抗性遺伝子による病原体認識と抵抗性打破ウイルス株の出現, 植物感染生理談話会論文集, 46, 81-90. (査読なし)
- ⑧ 小林括平・富田麗子・関根健太郎・坂本勝 (2010) CC-NBS-LRR 型抵抗性タンパク質によるトバモウウイルス外被タンパク質認識と局部病斑形成, 植物ウイルス病研究会レポート, 10, 35-43. (査読なし)
- ⑨ Thiébeauld, O., Schepetilnikov, M., Park, H.-S., Geldreich, A., Kobayashi, K., Keller, M., Hohn T. and Ryabova, L. A. (2009) A new plant protein interacts with eIF3 and 60S to enhance virus-activated translation re-initiation. *EMBO Journal*, 28, 3171-3184. (査読あり)
- ⑩ Sakamoto, M., Tomita, R. and Kobayashi, K. (2009) A protein containing an XYPPX repeat and a C2 domain is associated with virally induced hypersensitive cell death in plants. *FEBS Letter*, 583, 2552-2556. (査読あり)
- ⑪ Matsumoto, K., Johnishi, K., Hamada, H., Sawada, H., Takeuchi, S., Kobayashi, K., Suzuki, K., Kiba, A., and Hikichi, Y. (2009) Single amino acid substitution in the methyltransferase domain of Paprika mild mottle virus replicase proteins confers the ability to overcome the high temperature-dependent Hk gene-mediated resistance in Capsicum plants. *Virus Research*, 140, 98-102. (査読あり)
- ⑫ Kobayashi, K., Tomita, R. and Sakamoto, M. (2009) Recombinant plant dsRNA-binding protein as an effective tool for the isolation of viral replicative form dsRNA and universal detection of RNA viruses. *Journal of General Plant Pathology*. 75, 87-91. (査読あり)

[学会発表] (計 33 件)

- ① 陳輝・海道真典・出原健吾・園田麻衣・富田麗子・厚見剛・関根健太郎・山岡直人・西口正通・奥野哲郎・小林括平、トバモウウイルス抵抗性 L タンパク質による病原体認識に関わる補助因子の探索、平成 24 年度日本植物病理学会大会、2012

- 年 3 月 29 日、福岡市、福岡国際会議場。
- ② 出原健吾・野口真未・富田麗子・厚見剛・関根健太郎・山岡直人・西口正通・小林括平、トバモウイルス外被タンパク質へのランダム変異導入による L/N' 抵抗性打破変異出現予測システムの開発、平成 24 年度日本植物病理学会大会、2012 年 3 月 29 日、福岡市、福岡国際会議場。
- ③ 関根健太郎・富田麗子・厚見 剛・小林括平、R-Avr タンパク質間相互作用の親和性がトバモウイルス抵抗性タンパク質 L の病原体認識範囲を規定する、平成 24 年度日本植物病理学会大会、2012 年 3 月 29 日、福岡市、福岡国際会議場。
- ④ Idehara, K., Noguchi, M., Tomita, R., Atsumi, G., Sekine, K.-T., Yamaoka, N., Nishiguchi, M. and Kobayashi, K. Development of a system for forecasting the occurrence of mutations that break L/N' resistance using random mutagenesis of tobamovirus coat protein genes, 植物病理学第二回日韓合同シンポジウム、2012 年 3 月 27 日、福岡市、福岡国際会議場。
- ⑤ Kobayashi, K., Tomita, R., Chen, H., Mizuomot, H., Atsumi, G., Kiba, A., Yamaoka, N., Hikichi, Y., Nishiguchi, M. and Senike, K.-T. Toward understanding the mechanism for recognition of Tobamovirus coat proteins by L and N' resistance proteins, 国際微生物学連合：第 15 回国際ウイルス学会議、2011 年 9 月 13 日、札幌市、札幌国際会議場。
- ⑥ 富田麗子・陳輝・関根健太郎・曳地康史・山岡直人・西口正通・小林括平、*Capsicum* 属植物 L 抵抗性タンパク質とトバモウイルス外被タンパク質の物理的相互作用には L タンパク質の異なるドメインが関与する、平成 23 年度日本植物病理学会大会、2011 年 3 月 28 日、府中市、東京農工大学。
- ⑦ 関根健太郎・富田麗子・厚見剛・小林括平、トバモウイルス抵抗性タンパク質 L 及び N' の間で保存された C 末端領域の機能解析、平成 23 年度日本植物病理学会大会、2011 年 3 月 28 日、府中市、東京農工大学。
- ⑧ 水本祐之ら、トバモウイルス抵抗性タンパク質 L^{1a} の高温機能性を決定するアミノ酸領域の探索、平成 22 年度日本植物病理学会関西部会、2010 年 9 月 30 日、福井市、AOSSA。
- ⑨ 中村郁美ら、高温での抵抗性遺伝子 L^{1a} による過敏反応の誘導に関与する *Tobacco mild green mosaic virus* 日本株の外被タンパク質領域の同定、平成 22 年度日本植物病理学会関西部会、2010 年 9

- 月 30 日、福井市、AOSSA。
- ⑩ 小林括平・富田麗子・坂本勝・関根健太郎、ナス科植物トバモウイルス抵抗性遺伝子による病原体認識と抵抗性打破ウイルス株の出現、平成 22 年度植物感染整理談話会 2010 年 8 月 20 日、唐津市、国民宿舎虹ノ松原ホテル。
- ⑪ 小林括平・富田麗子・関根健太郎・坂本勝、CC-NBS-LRR 型抵抗性タンパク質によるトバモウイルス外被タンパク質認識と局部病斑形成、第 10 回 植物ウイルス病研究会、2010 年 4 月 21 日、京都市、京都テルサ。
- ⑫ 水本祐之ら、カプシム属植物がもつトバモウイルス抵抗性遺伝子 L^{1a} の高温機能性は Leucine-rich repeat 領域にある 2 アミノ酸により決定されている。平成 22 年度日本植物病理学会大会、2010 年 4 月 18 日、京都市、京都国際会館。
- ⑬ 富田麗子・水本祐之・曳地康史・小林括平、*Capsicum* 属植物 L 抵抗性タンパク質によるトバモウイルス外被タンパク質の認識におけるタンパク質間相互作用、平成 22 年度日本植物病理学会大会、2010 年 4 月 18 日、京都市、京都国際会館。
- ⑭ 関根健太郎・富田麗子・小林括平、L³ 及び N' 抵抗性タンパク質におけるトバモウイルス認識スペクトル決定領域の探索、平成 22 年度日本植物病理学会大会、2010 年 4 月 18 日、京都市、京都国際会館。
- ⑮ 中村郁美ら、ピーマンの高温機能性抵抗性遺伝子 L^{1a} による抵抗性誘導に関与する *Tobacco mild green mosaic virus* 外被タンパク質領域の同定、平成 22 年度日本植物病理学会大会、2010 年 4 月 19 日、京都市、京都国際会館。
- ⑯ 小林括平・富田麗子、トバモウイルス感受性 *Nicotiana tabacum* が持つ N' の感受性アレルは部分的遺伝子重複によって破壊されている。日本植物病理学会東北部会、2009 年 9 月 29 日、仙台市、宮城大学食産業学部。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 括平 (KOBAYASHI KAPPEI)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：40244587

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし