

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380026

研究課題名(和文) ウイロイド特異的スモールRNAの品種・組織特異的生合成経路と病原性発現機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of cultivar- and tissue-specific biogenesis of viroid-specific small RNA in relation to viroid pathogenicity

研究代表者

佐野 輝男 (Sano, Teruo)

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：30142699

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円

研究成果の概要(和文)：PSTVd-強毒株と弱毒株感染トマトの葉と茎に蓄積するPSTVd-small RNAは、茎より葉で、強毒株より弱毒株で蓄積量が少なかった。感染により宿主マイクロRNAのmiR159とmiR319が強毒株で大きく減少した。PSTVd全長配列、病原性領域除去配列、左末端、病原性、中央保存、PSTVd-small RNAホットスポット配列、トマトのgibberellin 3-hydroxylase遺伝子、DCL2遺伝子、AGO2遺伝子のヘアピンRNAを発現する形質転換植物を作成した。PSTVd配列由来ヘアピンRNAを発現するN.benthamianaはPSTVdの感染・増殖を遅延・抑制した。

研究成果の概要(英文)：Deep sequencing analysis of PSTVd-small RNA in leaf and stem of tomato infected with severe and mild PSTVd isolates revealed that PSTVd-small RNA was less abundant in leaf tissues than in stem, and in those infected with mild isolate than with severe. Reduction of PSTVd-small RNA in mild isolate was conspicuous especially in the regions containing the nucleotides 118, 126 and 201. Relative expression levels of some host microRNAs were down-regulated in PSTVd infected plants. Especially, miR159 decreased to nearly 50% and miR319 decreased to 33-63% of that of the healthy. Transgenic N.benthamiana and tomato lines expressing varieties of hairpin RNAs were created, which included various PSTVd-derived sequences, tomato gibberellin-related gene, DCL2 gene and AGO2 gene. Four of the 21 lines of transgenic N.benthamiana expressing hairpin RNA of PSTVd-related sequences showed delay of the infection and reduction of PSTVd accumulation.

研究分野：農学

キーワード：ウイロイド ノンコーディングRNA RNAサイレンシング siRNAシーケンス 抵抗性 病原性

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

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：ウイロイド、ノンコーディング RNA、RNA サイレンシング、siRNA シークエンス

1. 研究開始当初の背景

ウイロイドは約 250 - 400 ヌクレオチドの環状 1 本鎖 RNA で、2 科 7 属 28 種に分類されている。近年、欧米を中心に Potato spindle tuber viroid (PSTVd)、Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd) など病原力の強いウイロイドがトマトやナス科観葉植物で流行・流通し、日本でも汚染種苗を介した突発的な発生が報告され、世界各地で植物検疫上の重要課題となり始めている。ウイロイドは、独自の遺伝情報をコードしない“非コード RNA”で、宿主転写系に依存して自己複製・増殖し、矮化・葉巻など全身病状を起こす。なぜ、独自の遺伝情報をコードしない小さな RNA が自己複製し、病原性を有するのか？ウイロイドは、細胞内調節因子としての RNA の役割、RNA の細胞間/全身輸送、RNA 機能の進化など、RNA の有する未知の多様な機能を解く鍵を秘めている。

ウイロイドは高い分子内相補性を有しヘアピン状ステム-ループ構造を形成する。強力な RNA サイレンシング誘導能を有し、感染細胞には多量のウイロイド small RNA (以下 vd-sRNA) が蓄積する。ウイロイド誘導 RNA サイレンシングの発見以来、ノンコーディングなウイロイド RNA の機能発現（複製、病原性、進化）には RNA サイレンシングが関連すると考えられ、精力的な研究が進行している。特にウイロイド感染細胞に大量に蓄積する vd-sRNA の生合成機構の解明は病原性の謎を解く鍵と考えられ、申請者ら複数グループによる vd-sRNA のディープシーケンス解析の結果、vd-sRNA は、ウイロイドゲノムの全領域に由来し、複数のホットスポット領域から生成すること、プラス鎖とマイナス鎖の両方から生成すること、生成ホットスポットのパターンやプラス鎖/マイナス鎖の量比には品種間差があること、罹病性品種ではプラス鎖由来が圧倒的に多いこと、宿主 miRNA 発現プロファイルも品種特異的に変化する可能性があること、などが明らかになった。

一方、PSTVd ゲノムの一部を欠失し感染性を喪失させたヘアピン PSTVd-RNA を発現する形質転換トマトが PSTVd 抵抗性を示すことが報告され、RNA サイレンシングを利用したウイロイド抵抗性作物創出の可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

ウイロイド感染は RNA サイレンシングを誘導し、感染細胞内に大量の vd-sRNA を蓄積する。

本研究では第 1 に、強毒性と弱毒性のウイロイド変異体を受容性と耐病性の宿主に感染させ、感染植物の葉と茎に蓄積する vd-sRNA をディープシーケンスで比較解析する。

第 2 に、ウイロイド誘導 RNA サイレンシングとウイロイドの病原性発現機構の関連性を明らかにする。

ウイロイド感染細胞に大量に蓄積する vd-sRNA が RISC 複合体や miRNA 発現を攪乱して病徴発現に至る可能性を分析するため、ウイロイド自体の複製を伴わずにウイロイド-RNA サイレンシングを誘導する実験系を構築する。すなわち、vd-sRNA ホットスポット配列由来のヘアピン RNA を発現する形質転換植物、及び、抗ウイルス防御に関与する RNA サイレンシングのキー因子である DCL2 と AGO2 をノックダウンした形質転換植物を作成し、遺伝学的手法を用いて解析する。

第 3 に、ウイロイド誘導 RNA サイレンシングのウイロイド抵抗性機構を分析する。ウイロイドの様々な部分的領域に由来するヘアピン RNA を発現する形質転換体を作成し、ウイロイドをチャレンジ接種し、感染抑制効果を分析する。

以上の検討事項を総括し、ノンコーディングなウイロイド RNA の病原性発現分子機構を明らかにし、宿主の代謝系に悪影響を及ぼさずにウイロイドの感染を抑制する新規抵抗性植物の創出戦略を考案する。

3. 研究の方法

1) ウイロイド誘導 RNA サイレンシングのキー因子 vd-sRNA の品種・組織特異性と病原性及び抵抗性の関連性を解析するため、PSTVd - 基準株（強毒株）とダリア株（弱毒株）の感染性 cDNA クローンから *in vitro* 転写物を調製し、トマト Rutgers（感受性 - 激しい矮化・葉巻症状）とマイクロトム（耐病性 - 無病徴）に接種・感染させた後、顕著な病徴を示す接種 3 - 4 週間後に、葉、茎から全 RNA を抽出し、small RNA 分画（15 - 30 nt）を調製する。ディープシーケンス解析で品種・組織別に PSTVd-sRNA の蓄積プロファイルを分析し、パイオインフォマティクスで各サンプルの PSTVd-sRNA の種類と検出頻度

を解析し、PSTVd ゲノム上にマッピングして、品種 (Rutgers、マイクロトム) 組織 (葉、茎) 病徴 (野生型、弱毒型) の違いによる PSTVd-sRNA 生成プロファイルを比較・評価する。

2) 病徴発現との関係が示唆されるジベレリン生合成系の gibberellin -hydroxylase 遺伝子とブラスステロイド生合成系のマイクロトム矮性因子・シトクロム p450d (p450d) に焦点を当て、発病による発現量、両遺伝子由来 small RNA 蓄積量、及び関連する宿主 microRNA 発現量の変化を解析する。

3) PSTVd 配列由来の様々なヘアピン RNA を発現する形質転換植物を作出し、ウイルス誘導 RNA サイレncing が副次的に宿主の遺伝子発現に悪影響を与えて病徴発現に至るとする仮説 (Wang et al, 2004) について、感染植物に大量に蓄積する PSTVd-sRNA が直接宿主遺伝子発現に small interfering RNA (siRNA) として作用する可能性と microRNA 経路など RNA サイレncing 装置の攪乱を介して間接的に作用する可能性の両面から検証する。

4) PSTVd のほぼ全長、全長から病原性領域除いた領域、左末端領域、病原性領域、中央保存領域、PSTVd-sRNA ホットスポット配列などに由来する様々な hp-PSTVd-RNA を発現する形質転換植物に蓄積する PSTVd-sRNA を定量的・定性的に分析し、各形質転換体を示す PSTVd 抵抗力を分析・評価する。

4. 研究成果

ウイルス特異的 small RNA の品種・組織特異性と病原性との関連性: PSTVd-強毒株と弱毒株を感受性トマト (Rutgers) に接種し、葉と茎に蓄積する PSTVd-small RNA のディープシーケンス解析を行った。その結果、葉と茎による PSTVd-small RNA のホットスポットパターンが変化し、全体の蓄積量が異なっていた。すなわち弱毒株感染トマトでは茎では強毒株の 50-90%、葉では 15-28% に減少した。一方、強毒型と弱毒型間では両者の塩基変異に対応して一部の PSTVd-small RNA ホットスポットの蓄積量に違いが認められ、特に 118、126、201 番塩基を含むホットスポットでは弱毒株では蓄積量が激減していた。また、PSTVd の病原性領域上鎖の第 49 - 89 番塩基及び下鎖の 294 - 312 番塩基の領域に由来する PSTVd small RNA は弱毒株ではほぼゼロに激減しており、病原性領域に由来する PSTVd small RNA が病原性に関与するとする仮説を支持する結果が得られた。

次に、PSTVd-強毒株を 4 品種のトマトに感染させ、PSTVd-small RNA 蓄積パターンのディープシーケンス解析を行なった。その結果、品種により一部の PSTVd-small RNA ホッ

トスポットの蓄積量に違いが認められ、ウイルス特異的 small RNA の蓄積パターンはウイルスの病原性、品種、及び組織により異なることが明らかになった。

PSTVd 感染トマトの茎と葉に蓄積する small RNA のディープシーケンス解析で、ウイルス感染による宿主 miRNA 発現量変化を分析した。ウイルス感染で宿主 miRNA は様々な影響を受けており、特に miR159 は茎と葉の両方で豊富に発現していたが、PSTVd 感染により葉では 60 - 78%、茎では 43 - 47% に減少した。また miR162 でも同様に、葉では 61 - 76%、茎では 51 - 57% に減少した。miR319 は茎で葉より約 50 倍も豊富に発現していたが、PSTVd 感染で 33 - 63% に激減し、減少の程度は強毒株でより顕著であった。

ウイルスを標的とする RNA サイレncing とウイルス病原性発現機構の関連性: ウイルス特異的 small RNA が宿主遺伝子発現に作用し病原性を発現する可能性を検証するため、PSTVd のほぼ全長、PSTVd 左末端領域、PSTVd 全長から病原性領域を除いた配列、PSTVd 特異的 small RNA のホットスポットの 1 種 (srPSTVd-257a)、トマト gibberellin β -hydroxylase 遺伝子、トマト DCL2 遺伝子、トマト AGO2 遺伝子のヘアピン (hp)-RNA を発現する形質転換タバコ (*N.benthamiana*) とトマト (マイクロトム) を作成し、ホモ T2 世代を選抜した。各形質転換系統は若干の生育遅延、稔性不良を示すものもあった。PSTVd 由来ヘアピン RNA を発現するトマトは今後、PSTVd 抵抗力試験及びウイルス配列が RNA サイレncing を介して病徴発現に至る可能性を分析する研究の強力な材料となる。gibberellin β -hydroxylase 遺伝子をノックダウンさせたトマトはウイルスの標的遺伝子特定に繋がる実験に供試する予定でさらに解析を進めている。

ウイルスを標的とする RNA サイレncing とウイルス抵抗性機構の関連性: 上記で作出した様々な PSTVd 配列の hp-RNA を発現するタバコ (*N.benthamiana*) 21 系統に PSTVd をチャレンジ接種し、各系統の PSTVd 抵抗性を分析した。その結果、8 系統 (hpPSTVd- Δ P:82、hpPSTVd-TL:85、hpPSTVd-P-uppo:54、hpPSTVd-P-uppo:141、hpPSTVd-257a:24、hpPSTVd-257a:25、hpPSTVd-CCR-uppo:114、hpPSTVd-CCR-dopo:81) が PSTVd 抵抗性を示し、特に hpPSTVd: Δ P-82、hpPSTVd:Puppo-54、hpPSTVd:Puppo-141、hpPSTVd:257a-24、hpPSTVd:257a-25 の 5 系統に感染率の低下と PSTVd の増殖遅延効果が認められた。しかし、一方で、ウイルスは RNA サイレncing の標的となりながらも複製増殖を続けるこ

とから、ウイルス複製と RNA サイレンシングをつなぐ未知の経路が存在する可能性が示唆された。

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 15 件)

Owens RA, Tech KB, Shao JY, Sano T, Baker CJ. (2012) Global analysis of tomato gene expression during potato spindle tuber viroid infection reveals a complex array of changes affecting hormone signaling, *MPMI* 25: 582-598.

Owens RA, Sano T, Duran-Vila N. (2012) Plant viroids: isolation, characterization/detection, and analysis. *Methods Mol Biol.*, 894: 253-271.

Jiang D, Sano T, Tsuji M, Araki H, Sagawa K, Adkar Purushothama CR, Zhang Z, Guo R, Xie R, Wu Z, Wang H, Li S. (2012) Comprehensive diversity analysis of viroids infecting grapevine in China and Japan. *Virus Res.* 169: 237- 245.

Jiang D, Hou W, Sano T, Kang N, Qin L, Wu Z, Li S, Lianhui Xie L. (2013) Rapid detection and identification of viroids in the genus Coleviroid using a universal probe. *J Virol Method* 187: 321- 326.

Adkar-Purushothama CR, Nagaraja H, Sreenivasa MY, Sano T.* (2012) First Report of *Coleus blumei* viroid infecting *Coleus* in India, *Plant Disease* 97: 149.

Kasai A, Sano T, Harada T. (2013) Scion on a stock producing siRNAs of Potato spindle tuber viroid (PSTVd) attenuates accumulation of the viroid. *PLoS ONE* 8(2): e57736. doi:10.1371/journal.pone.0057736

Tsuda S, Sano T. (2014) Threats to Japanese agriculture from newly emerged plant viruses and viroids. *J Gen Pl Pathol.*, 80: 2-14.

Kaponi, MS, Sano T, Kyriakopoulou PE. (2013) Natural infection of sweet cherry trees with Apple scar skin viroid. *J Pl Pathol.* 95: 429-433.

Sahana AB, Adkar-Purushothama CR, Chennappa G, Zhang Z-H, Sreenivasa MY, Sano T. (2013) First report of Grapevine yellow speckle viroid-1 and Hop stunt viroid infecting grapevines (*Vitis vinifera*) in India, *Plant Disease* 97: 1517.

Sano T. (2013) History, origin, and diversity of hop stunt disease and Hop stunt viroid, *Acta Horticulturae* 1010: 87-96.

Adkar-Purushothama CR, Kanchepalli PR, Sreenivasa MY, Zhang Z-X, Sano T.* (2014) Detection, distribution, and genetic diversity of

Australian grapevine viroid in grapevines in India, *Virus Genes* 49: 304-311.

Di Serio F, Flores R, Verhoeven JThJ, Li S-F, Pallás V, Randles JW, Sano T, Vidalakis G, Owens RA. (2014) Current status of viroid taxonomy. *Arch Virol.*, 159: 3467-3478.

Tsushima D, Adkar-Purushothama CR, Taneda A, Sano T.* (2015) Changes in relative expression levels of viroid-specific small RNAs and microRNAs in tomato plants infected with severe and mild symptom-inducing isolates of Potato spindle tuber viroid. *J Gen Pl Pathol.*, 81: 49-62.

津田新哉・佐野輝男 (2014) 近年の日本農業の脅威となる外来侵入植物ウイルス・ウイルス。日植病報 80 特集号: 134-142.

河野貴幸・水谷房雄・佐山春樹・高柳直幸・佐野輝男 (2014) カンキツウイルス接種が「宮川早生」ウンシュウミカンの樹体成長と果実品質に及ぼす影響。愛媛大学農学部農場報告 36: 1-6.

[学会発表](計 28 件)

Tsushima T, Sano T. (2012) Pathogenicity and replication competence of PSTVd-like specific deletion molecule and unknown circular RNA molecule, detected from dahlia in Japan. XVth International Congress of Molecular Plant-Microbe Interaction, July 29 – Aug 2, Kyoto International Congress Center, Kyoto, Japan (Poster)

Adkar-Purushothama CR, Kasai A, Harada T, Sano T. (2012) Evaluation of RNAi-mediated resistance offered to Potato spindle tuber viroid in transgenic *N. benthamiana* plants expressing different hairpin RNA constructs. XVth International Congress of Molecular Plant-Microbe Interaction, July 29 – Aug 2, Kyoto International Congress Center, Kyoto, Japan (Poster)

Sano T. (2012) History, origin, and diversity of hop stunt and hop stunt viroid. III International Humulus Symposium, September 9th – 14th, Zatec, Czech Republic (Invited Speaker)

室崎文美子・張志想・Adkar-Purushothama Charith Raj・佐野輝男 (2012) ホップ矮化ウイルス - ブドウ及びホップ変異体の感染力とウイルス特異的 small RNA 蓄積パターンの比較。平成 24 年度(第 48 回)日本植物病理学会東北部会(山形県鶴岡市, 山形大学農学部) 9 月 13 日 - 14 日。

河野貴幸, 水谷房雄, 佐山春樹, 高柳直幸, 佐野輝男 (2012) カンキツウイルス III 接種がウンシュウミカン「宮川早生」の

果実品質に及ぼす効果. 平成 24 年度日本園芸学会秋季大会(福井市)9月22-23日.

葛西厚・Adkar-Purushothama Charith Raj・佐野輝男・原田竹雄(2012) ウイロイド(PSTVd)の siRNA 産生台木上の穂木における PSTVd 増殖に対する抵抗性. 平成 24 年度日本育種学会秋季大会(京都市)9月14-15日

高田展之・Adkar-Purushothama Charith Raj・葛西厚・赫英紅・宍戸愛・原田竹雄・佐野輝男(2013) ウイロイド特異的 small RNA のウイロイド複製抑制効果の解析. 平成 25 年度日本植物病理学会大会(岐阜市、岐阜大学)2013年3月27-29日.

対馬太郎・松本真衣・片山菜津恵・佐野輝男(2013) コリウスウイロイド1と6の分子構造と感染性の比較解析. 平成 25 年度日本植物病理学会大会(岐阜市、岐阜大学)3月27-29日.

Tsushima T and Sano T. (2013) Molecular and biological characterization of Potato spindle tuber viroid and Dahlia latent viroid in dahlia cultivated in Japan. International Workshop on Viroids and Satellite RNAs (IWVdS). Beijing (China), April 23 - 25.

Sano T, Zhang S-X, Taneda A, Matsuda T, Murosaki F, Li S-F, Owens RA. (2013) Characterization of Hop stunt viroid adaptation mutations emerged during persistent infection in hops. International Workshop on Viroids and Satellite RNAs (IWVdS). Beijing (China), April 23 - 25.

Sano T. (2013) Analysis of viroid-specific small RNAs in relation to viroid pathogenicity. The 22nd Annual Meeting and Symposium on Plant Virus Diseases. Korean Society of Plant Pathology MRPVD. October 16, Sunchon National University, Sunchon, Korea, (Invited speaker)

Sano T. (2013) Current status of viroid disease epidemics in the world. 2013 Korean Society of Plant Pathology. International Conference. October 18, Sunchon National University, Sunchon Korea, (Invited speaker)

対馬太郎・佐野輝男・藤晋一・松下陽介(2013) 日本のダリアから検出された Dahlia latent viroid の分子構造と生物学的特徴. 平成 25 年度日本植物病理学会東北部会、秋田市にぎわい会館、平成 25 年 10 月 28 日 - 29 日

対馬大希・伊藤寛次・佐野輝男(2013) ジャガイモやせいもウイロイドの全身蓄積量ならびに病原性と可変及び右末端領域の関連性. 平成 25 年度日本植物病理学会東北部会、秋田市にぎわい会館、平成 25 年 10 月 28 日 - 29 日

白川明日佳・赫英紅・佐野輝男・伊藤大

雄(2013)有機栽培リンゴ園における葉圏微生物の多様性解析. 平成 25 年度日本植物病理学会東北部会、秋田市にぎわい会館、平成 25 年 10 月 28 日 - 29 日

Sano T. (2013) Molecular ecology of viroids and viroid diseases of crop plants. Special lecture in Botanical Society, University of Mysore (Department of Studies Botany). December 2, Mysore, India, (Lecturer)

佐野輝男(2014) ウイルス病害を中心としたリンゴ病害の診断・防除について. JA つがる弘前目屋支店りんご部会学習会、東目屋ふれあいセンター、2014年2月3日

対馬大希・種田晃人・佐野輝男(2014) ジャガイモやせいもウイロイド-ダリア株の可変及び右末端領域に生じた3塩基変異の分析. 平成 26 年度日本植物病理学会、札幌市札幌コンベンションセンター、平成 26 年 6 月 2 日

藤林美里・赫英紅・畑谷達児・佐野輝男(2014) アブスカウイロイド属ウイロイドの草本性植物に対する病原性解析. 平成 26 年度日本植物病理学会、札幌市札幌コンベンションセンター、平成 26 年 6 月 2 日

Tsushima D, Taneda A, Sano T. (2014) Molecular characterization of attenuated Potato spindle tuber viroid strain from dahlia. XIVth International Congress of Virology, Montreal, Canada, July 29.

21 菅原康平・葛西厚史・Adkar-Purushothama Charith Raj・赫英紅・後藤英樹・山本英樹・原田竹雄・佐野輝男(2014) RNAi によるヘアピン PSTVd 特異的 small RNA を発現する形質転換トマトの作出. 平成 26 年度日本植物病理学会感染生理談話会、平成 26 年 8 月 6 日 - 8 月 8 日

22 対馬大希・Adkar-Purushothama Charith Raj・種田晃人・佐野輝男(2014) ジャガイモやせいもウイロイドの病原性の分子機構 標的宿主因子の探索. 平成 26 年度日本植物病理学会感染生理談話会、平成 26 年 8 月 6 日 - 8 月 8 日

23 対馬大希・Adkar-Purushothama Charith Raj・種田晃人・佐野輝男(2014) 病原性の異なるジャガイモやせいもウイロイド感染トマト中のマイクロRNA 発現量の変動分析. 平成 26 年度日本植物病理学会東北部会、盛岡市アイーナホール、平成 26 年 9 月 25 日 - 26 日

24 対馬太郎・佐野輝男(2014) コリウスブルメイウイロイド-1 (CbVd-1) 分子ループ構造変異体7種の生物学的特徴. 平成 26 年度日本植物病理学会東北部会、盛岡市アイーナホール、平成 26 年 9 月 25 日 - 26 日

25 葛西鴻志・鈴木貴大・高橋諒大・山崎祐人・齊藤瑠衣・成田和子・佐野輝男(2014) 国内で発生している Apple dimple fruit viroid

(ADFVd)の塩基配列と系統解析、平成 27 年度日本植物病理学会、東京都・明治大学アカデミーコモン、平成 27 年 3 月 28 日 - 30 日

- 26 菅原康平・Adkar-Purushothama CJ・葛西厚史・山本英樹・山崎祐人・赫英紅・高田展之・後藤英樹・新堂さほり。原田竹雄・佐野輝男(2014) ウイロイド特異的スモール RNA を発現する形質転換ベンサミアータバコ .平成 27 年度日本植物病理学会、東京都・明治大学アカデミーコモン、平成 27 年 3 月 28 日 - 30 日
- 27 対馬太郎・佐野輝男(2014) 異なる分子内ループ構造を有するコリウスブルメイウイロイド(CbVd-1)変異体の遺伝的安定性と種子伝染性の分布 .平成 27 年度日本植物病理学会、東京都・明治大学アカデミーコモン、平成 27 年 3 月 28 日 - 30 日
- 28 対馬大希・佐野輝男(2014) ジャガイモやせいもウイロイド - ダリア株の可変及び右末端領域の塩基変異と病原性 .平成 27 年度日本植物病理学会、東京都・明治大学アカデミーコモン、平成 27 年 3 月 28 日 - 30 日

〔図書〕(計 1 件)

Adkar-Purushothama C.J, Zhang Z-X, Li S-F, Sano T. (2014) Chapter 12. Analysis and application of viroid-specific small RNAs generated by viroid-Inducing RNA silencing. In Methods in Molecular Biology 1236. Edited by Uyeda I and Masuta C. Plant Virology Protocols – New approaches to detect viruses and host responses 3rd Edition. pp. 135-175.

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：弱毒性カンキツ矮化ウイロイド及びその使用
発明者：佐山春樹、高柳直幸、水谷房雄、河野貴幸、佐野輝男
権利者：キッコーマン(株)、愛媛大学、弘前大学
種類：
番号：特願 2013-000722
出願年月日：2013(平成 25 年 1 月 7 日)
国内外の別：国内

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://nature.cc.hirosaki-u.ac.jp/lab/3/plapath/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐野 輝男 (SANO TERUO)
弘前大学・農学生命科学部・教授
研究者番号：30142699

(2)研究分担者

原田 竹雄 (HARADA TAKEO)
弘前大学・農学生命科学部・教授
研究者番号：

種田晃人 (TANEDA AKITO)
弘前大学・理工学研究科・准教授
研究者番号：20241367

(3)連携研究者

海外研究協力者

R.A.Owens

USDA・Agriculture Research Service
Molecular Plant Pathology Laboratory