

アスコルビン酸（ビタミン C）誘導体の 抗ウイルス剤としての利用

北海道大学大学院農学研究院 ^{しむら}志村 ^{はなこ}華子・^{ますた}増田 ^{ちから}税

日本曹達株式会社小田原研究所 ^{おおもり}大森 ^{やすひろ}康弘・^{おおさわ}大沢 ^{ようこ}陽子・^{さの}佐野 ^{しんすけ}慎亮

はじめに

植物は、ウイルス感染を防御するために RNA サイレンシングという RNA 分解機構を利用する。一方、植物ウイルスはこれに対抗するために RNA サイレンシングサプレッサー（RSS）を持ち、RNA サイレンシングを抑制することが知られている。我々は、もしウイルスの RSS を阻害する化合物が存在すれば、それは抗ウイルス剤となりうると発案し、RSS 阻害剤のスクリーニングを行った。スクリーニングにより得られた化合物の一つはビタミン C として知られるアスコルビン酸に類似していたことから、アスコルビン酸やその誘導体を抗ウイルス剤として利用できるか解析したところ、アスコルビン酸誘導体にも RSS 阻害作用があることを確認できた。ここでは、RNA サイレンシングを介した植物とウイルスの相互作用や RSS 阻害剤のスクリーニングの経緯についてまず解説する。そして、RSS 阻害剤として見いだされたアスコルビン酸誘導体を利用して、ウイルスフリー化実験や圃場におけるウイルス病防除効果試験を行った結果について紹介する。

I RNA サイレンシングを介した植物とウイルスの相互作用

植物がウイルスに感染すると、わい化、えそ、モザイク、縮葉や黄化等の様々な病徴が現れ、農作物の場合には品質の悪化や収量の低下を引き起こす。真菌や細菌類が起こす病気の防除には農薬を用いることが一般的だが、ウイルス病の防除に用いる農薬はないといっている。このため、ウイルス病が発生した場合には、感染株を早期に発見して圃場から除去し、ウイルスの媒介昆虫を除去して感染拡大を防ぐなどの対策がとられる。ウイルス病に対する農薬がないのは、ウイルスが宿主細胞内

で宿主由来の因子を利用して増殖することに起因する。宿主細胞内でのウイルスの複製機構は複雑であり、いまだ明らかになっていないことが多い。そのような状況で、宿主細胞に毒性がなくウイルスの増殖だけを特異的に阻害するような薬剤を見いだすことは困難であると考えられる。

一方、植物は本来、感染してきたウイルスに対抗するための防御メカニズムを備えている。それは抵抗性遺伝子（R 遺伝子）と RNA サイレンシングである。抵抗性遺伝子は、ウイルスに限らず様々な病原体の侵入を感知して、防御応答にかかわる遺伝子群を活性化する。RNA サイレンシングは、21～24 塩基の small RNA（sRNA）が生じることによって誘導される塩基配列特異的な RNA 分解機構のことであり、真核生物のほとんどで保存されているメカニズムである。RNA サイレンシングは内生遺伝子の発現調節にも大きな役割を担っており、植物の組織や器官の分化に必要な遺伝子の発現調節にも sRNA がかわることがわかってきている。ウイルスが感染するとウイルス由来の sRNA が多量に生じることから、宿主細胞内では RNA サイレンシングによってウイルス RNA の特異的な分解が起こる。このような RNA サイレンシングによる植物側の防御反応に対抗するため、植物ウイルスの多くは RNA サイレンシングを抑制することができる RNA サイレンシングサプレッサー（RSS）を持っている（図-1）。ウイルスの RSS は、ウイルスを分解しようとする RNA サイレンシングを抑える一方で、植物の遺伝子発現調節を行っている RNA サイレンシングも抑制する。つまり、ウイルス感染によって現れる様々な病徴は、RSS の影響によって植物の正常な遺伝子発現調節に異常をきたしたことが原因とも考えられる。実際、RNA サイレンシング抑制活性が強い RSS を持つウイルスは激しい病徴を示す場合が多い。我々は、植物とウイルスとの間の RNA サイレンシングを介した相互作用、特に病徴発現における RNA サイレンシングと RSS のかわりについて研究を続けてきた。ウイルスの RSS はウイルスの増殖量だけでなく病徴の強弱にもかかわるとされる。つまり、RSS の機能を制御することができれば、宿主の RNA サイレンシングを滞り

Application of Exogenous Ascorbic Acid Derivatives as Antiviral Agents in Plants. By Hanako SHIMURA, Yasuhiro OOMORI, Yoko OSAWA, Shinsuke SANO and Chikara MASUTA

（キーワード：抗ウイルス剤、RNA サイレンシングサプレッサー、アスコルビン酸誘導体、ビタミン C）

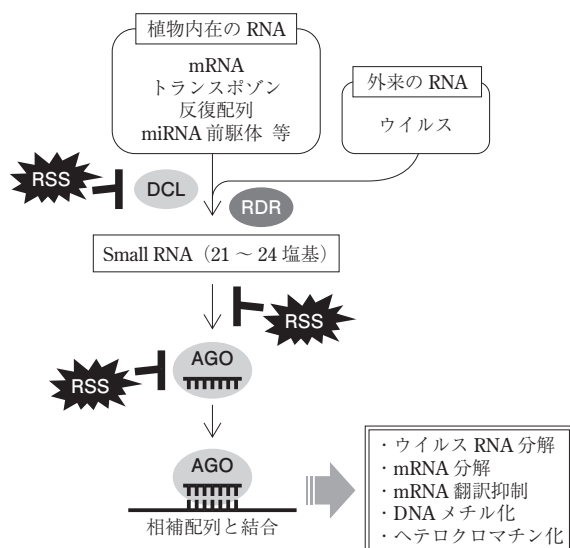


図-1 ウイルス感染防御として働く RNA サイレンシングとそれを抑制するウイルスの RNA サイレンシングサプレッサー (RSS)

RNA サイレンシングは mRNA などの特異的の分解を行う RNA 分解機構であり、遺伝子発現を調節する役割を持つ。一方で、RNA サイレンシングはウイルスのような外来 RNA の分解も行っている。これに対し、ウイルスは RSS によって RNA サイレンシング経路の進行を阻害する。DCL, RDR, AGO は RNA サイレンシング経路の宿主因子。

なく動かし、ウイルスの増殖抑制や病徴の軽減へとつなげることができるのではないと思われる。このような考えから、以下に述べるような RSS をターゲットとする抗ウイルス剤の開発に挑戦することとなった。

II ウイルスの RNA サイレンシングサプレッサー (RSS) を標的とした抗ウイルス剤候補の選抜

植物ウイルスだけでなく、動物ウイルスや菌ウイルス（マイコウイルス）においても宿主の RNA サイレンシングを抑制する活性を持つ因子（多くの場合はタンパク質）が RSS として報告されている。植物ウイルスの RSS には、RNA サイレンシング経路の重要なタンパク質である DCL（二本鎖 RNA 特異的 RNA 分解酵素）や AGO（スライサータンパク質）の機能を阻害するものもあるが、最も多く報告されている RSS の特徴は、sRNA（二本鎖の siRNA や一本鎖の miRNA）へ結合することである。siRNA や miRNA は、RNA サイレンシング経路において AGO に取り込まれ、AGO とともにターゲット RNA（RNA サイレンシングによって分解される RNA）を探すガイドとなる役割がある。RSS が siRNA や miRNA と結合することは、これら sRNA が

AGO へ取り込まれることを阻害することになるので、結果として RNA サイレンシングの流れが中断されることになる。キュウリモザイクウイルス（CMV）は、2b タンパク質（2b）に RSS 活性があることがわかっており、2b は siRNA や miRNA と結合することができる。我々は、病徴が強い CMV 強毒系統とほとんど病徴を示さない CMV 弱毒系統の 2b を比較したところ、強毒系統の 2b は siRNA とよく結合したが、弱毒系統の 2b はほとんど siRNA と結合しないことを見いだした（Goto et al., 2007）。このことをふまえ、RSS と siRNA の結合を阻害するような化合物が抗ウイルス剤になりうるのではないかと発案し、RSS 阻害剤となる化合物のスクリーニングを開始した。

まず、表面プラズモン共鳴センサーおよびゲルシフトアッセイを組合せ、RSS 活性を抑制する（すなわち RSS と siRNA の結合を阻害する）物質の *in vitro* スクリーニング系を開発した（SHIMURA et al., 2008 a）。この系を用いることで、数千の化合物ライブラリから迅速かつ確に RSS と siRNA の結合を抑制する化合物を選抜することが可能となった。また、*in vitro* スクリーニングで見いだされた化合物が、*in vivo* でも RSS 活性への抑制効果を示すか確認するためには、植物細胞を用いた RSS 活性の評価が必要である。そこで、RSS の RNA サイレンシング抑制活性を定量的に測定することができる一過的な RNA サイレンシング誘導系をタバコのプロトプラストを用いて確立した（SHIMURA et al., 2008 b）。確立したプロトプラスト系を用いて *in vitro* スクリーニングで選抜された候補化合物を評価したところ、それらの化合物は細胞レベルでも RSS 活性を低下させることを確認した。さらに、これらの化合物をウイルス感染植物に投与したところ、ウイルスの病徴発現が実際に抑制されることも確認することができた（SHIMURA et al., 2008 a）。こうして、RSS に対して阻害的に働く化合物をスクリーニングすることができたが、得られた化合物のうちで最も RSS 阻害作用の強かった化合物は、ビタミン C として知られるアスコルビン酸によく似た構造を持つことがわかった。そこで我々は、アスコルビン酸やその誘導体にも RSS 阻害作用があるのではないかと考え、アスコルビン酸およびその誘導体についてもその効果を調べてみた。その結果、プロトプラストを用いた評価系でアスコルビン酸誘導体による RSS 活性の抑制効果を確認することができた。その後、植物体を用いた試験においても、アスコルビン酸誘導体の一つ L-アスコルビン酸 2-硫酸エステル二ナトリウム二水和物（AsA-SO₄）の処理によりウイルス接種個体でウイルス感染点の拡大が抑制

されるなどの効果があることがわかった（FUJIWARA et al., 2013）。当初にスクリーニングされた RSS 阻害作用を持つ化合物は安全面や合成面に課題があるため、代わりに、安全面に問題がなく入手が容易なアスコルビン酸およびその誘導体を抗ウイルス剤として利用するのが現実的であると考え、以後はアスコルビン酸誘導体がウイルスフリー化を目的とした茎頂培養や圃場でのウイルス防除において抗ウイルス剤として利用できるか検証を続けることにした。

III 茎頂培養におけるアスコルビン酸誘導体の抗ウイルス作用

植物ウイルスの多くは種子に移行しないという性質を持つことから、ウイルスに感染した植物でも、種子形成を経れば次世代にウイルスは伝わらない。しかし、この原理を種子繁殖を行わない栄養繁殖性の農作物に当てはめることはできない。栄養繁殖性の植物では、茎頂培養を行うことでウイルスを除去（ウイルスフリー化）している。茎頂培養によるウイルスフリー化は、イモ類、イチゴ、キク等で実際に利用されている。ウイルス除去を目的とした茎頂培養では、切り出す組織の大きさによってウイルスフリー化率や生存率が大きく変動する。すなわち、切り出す組織が大きいと生存率が高いが、ウイルスがいる細胞を含んでしまうのでウイルスフリー化効率が低くなる。切り出す組織を小さくするとウイルスフリー化効率は上がるが、植物体の再生率が下がる場合もある。このような問題からウイルス除去を効率的に行えず、ウイルスフリー化株の利用が実用化に至らない場合も多い。

我々は、茎頂培養時にアスコルビン酸誘導体を抗ウイルス剤として利用することで、ウイルスフリー化効率の

向上や作業の簡便化を行うことを検討している。現在、研究を進めているのはニンニクとアスパラガスのウイルスフリー化である。ニンニクは鱗片の分割によって増殖することから栄養繁殖性である。ニンニクの茎頂培養は古くから行われているが、顕微鏡を用いて小さな茎頂組織（0.2～0.4 mm）を無菌的に切り出すには熟練した技術と経験が必要である。もし、目視で確認できるような大きさに茎頂を切り出した場合でもウイルスフリー化ができれば、植物体の生存率も高まり、作業も簡便になることが期待できる。まず、*Onion yellow dwarf virus* (OYDV) に感染しているニンニクを用いて、ウイルスの局在について免疫組織化学染色を用いて調べた。その結果、OYDVは茎頂組織内の葉原基（茎頂組織内にあり、いずれ分化して葉となる部分）にも感染している場合があることがわかった。このため、OYDV を除去する場合はできるだけ葉原基を外して成長点（茎頂組織内の細胞分裂が最も盛んな領域）のみを培養することが必要となると考えられた。しかし、葉原基の有無は培養個体の生存率や生育速度に影響し、成長点のみの培養は枯死率が高まることにもなる。そこで、茎頂組織を 0.7～1.0 mm（成長点＋葉原基 3 枚程度）で切り出して AsA-SO₄ を添加した培地に置床したところ、無処理区では OYDV 感染率が 100% だったが、処理区の培養物では 20～60% の個体で OYDV は検出されなかった。L-アスコルビン酸 2-グルコシド（AsA-G）処理でも OYDV に対する抗ウイルス作用が確認でき、qRT-PCR によりウイルス量を定量したところ、AsA-G 500 ppm 処理区の OYDV 量は無処理区に比べて約 60% 減少していた（図-2）。また、*Leek yellow stripe virus* (LYSV) に感染したニンニクを用いた試験では、茎頂組織を 5 mm という肉眼でも十分観察可能な大きさに切り出したが、その場合で

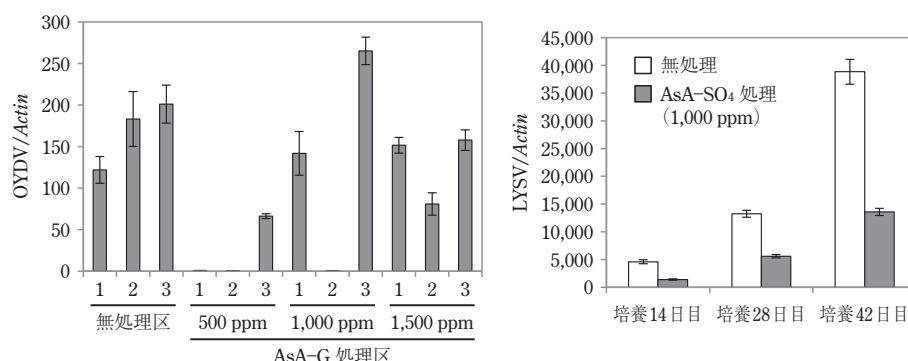


図-2 ニンニク茎頂培養におけるアスコルビン酸誘導体の抗ウイルス作用

OYDV または LYSV に感染したニンニクから大きめに茎頂組織を切り出し、アスコルビン酸誘導体を添加した培地で培養した。培養後、伸長したシュート内のウイルス量を qRT-PCR により定量した。

表-1 アスパラガス茎頂培養におけるアスコルビン酸誘導体の抗ウイルス作用

AV-1 と AV-2 が重複感染しているアスパラガスから茎頂組織を切り出し、アスコルビン酸誘導体添加培地で培養した。培養 60 日後、再生したシュートでウイルス検定 (RT-PCR) を行った。

	(ppm)	AV-1 感染個体 (%)				AV-2 感染個体 (%)			
		系統 G	系統 M	系統 U	系統 Z	系統 G	系統 M	系統 U	系統 Z
AsA-G	500	25	100	100	25	63	100	50	63
	1,000	10	60	100	25	60	100	71	13
	1,500	0	40	100	50	100	100	50	63
AsA-SO ₄	500	29	71	100	33	100	100	63	44
	1,000	22	83	100	11	89	100	57	67
	1,500	57	63	100	25	71	100	63	50
無処理		71	100	100	100	100	100	100	100

も AsA-SO₄ 処理により LYSV 量が 20 ～ 60% 減少していることを確認した (図-2)。このように組織を大きく切り出す場合には培養物の成長が通常よりも早く、培養期間の短縮にもつながると考えられる。

次に、アスパラガスのウイルスフリー化へアスコルビン酸誘導体を利用した例について紹介する。アスパラガスに感染するウイルスには *Asparagus virus 1* (AV-1) および *Asparagus virus 2* (AV-2) がある。AV-2 は種子伝染するため、感染種子の流通が AV-2 感染の広がる要因になっている。種子伝染性ウイルスのフリー化は、茎頂培養を用いても難しい。また、AV-1 はアブラムシで伝搬されるため、感染株が圃場にある場合その感染拡大が容易に起こる。これまでの予備実験において、AV-1 および AV-2 の感染がすでに国内にまん延していることが判明しているが、これらのウイルス感染が原因でアスパラガスに減収が起きている可能性は高い。欧米ではアスパラガスのウイルスフリー化が試みられているがその効率は低く、日本においてはウイルスフリー化したアスパラガス苗の実例はない。我々は、アスパラガスのウイルスフリー化には従来の茎頂培養にさらに工夫を加える必要があると考え、アスコルビン酸処理を適用しその効果をみることにした。まず、AV-1 と AV-2 が重複感染しているアスパラガス若茎を材料にして一般的な茎頂培養を行ったところ、供試した数種のアスパラガス系統のほとんどで AV-1 が残存し、また、AV-2 はすべての系統で残存していた。このことから、茎頂培養のみではアスパラガスからウイルスを除去することは困難であると考えられた。次に、AV-1 と AV-2 が重複感染しているアスパラガス培養物を用意し、アスコルビン酸誘導体処理の影響を調べた。処理するアスコルビン酸誘導体には、

AsA-SO₄ と AsA-G を用いた。処理の結果、どちらのアスコルビン酸誘導体を用いた場合でも、AV-1、AV-2 のどちらに対してもある程度の除去効果が得られた (表-1)。アスコルビン酸誘導体の種類や添加濃度によって除去効果の違いは認められなかった。また、ウイルスフリー化率には系統内や系統間で差が見られ、これは用いた組織に元々感染していたウイルスの量や植物側の内生要因等の違いがアスコルビン酸処理の効果に影響したからと考えている。ウイルスフリーのアスパラガスを栽培すればアスパラガスの生産性の向上につながれることを期待しており、現在は市販に流通する品種を用いてウイルスフリーアスパラガスの作出を試みている。

IV 植物体を用いたアスコルビン酸誘導体のウイルス病防除効果

圃場レベルでの効果の検証には、種々のアスコルビン酸誘導体の中から、薬害がなく、食品添加物でもある脂溶性のアスコルビン酸誘導体を選抜した。この脂溶性アスコルビン酸誘導体を一般農薬のように散布剤として使用するため、様々な製剤化を検討した結果、有効成分 30 ～ 60% の水和剤 (WP) として処方確立することができた。脂溶性アスコルビン酸誘導体の WP 製剤を用いて各種の植物ウイルス病防除試験を実施してきたが、ここでは日本曹達 (株) の社内圃場で実施してきたトマト黄化葉巻病に対する防除試験結果の一部を紹介する。

トマト黄化葉巻病はタバココナジラミが媒介するトマトの最重要病害の一つである。病原ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) は環状 1 本鎖 DNA をゲノムに持ち、V2 と C2 の 2 種類が RSS として報告されている。TYLCV 抵抗性のトマト品種も知られているが一

般的ではない。そのため、本病の防除には、温室やビニールハウスへの防虫網（開口部 0.4 mm 目合い）の設置や、タバコナジラミ殺虫剤による体系防除が指導されている。

トマト黄化葉巻病の防除試験は、静岡県内の社内ビニールハウスで実施した。TYLCV（イスラエル系）を保毒させたタバコナジラミは殺虫剤による防除が容易なタイプ B、トマト品種は TYLCV 感受性の「桃太郎」を用いた。WP 製剤の希釈液 150～600 ppm を毎週散布すると、トマト黄化葉巻病の発病を軽減あるいは遅延させる傾向が認められ、試験条件によっては 80% 近い防除効果を示した。しかし、濃度に依存した防除効果は得られず、多くは 50% 前後の防除価であった。また、甚発生の条件では無処理区と有意差を示さない場合や、極少発生の条件では無処理区よりも発病が激しくなる場合も認められた。トマト 1 株にタバコナジラミが 3 頭以上見られるような発病条件では WP 製剤による防除効果が認められにくかったことから、タバコナジラミに効果の優れた殺虫剤の粒剤処理で感染虫数を一定数以下に制御し、WP 製剤を 1 週間間隔で散布することにした。その結果、WP 製剤と殺虫剤の併用は発病を大幅に遅延させ、感染 40 日前後までは 80% 近い防除価を示した（図-3）。

脂溶性アスコルビン酸誘導体 WP 製剤は農薬登録申請にむけて実証試験を重ねているところであるが、実用化にむけた問題の一つに、本剤の効果が季節や個体差の影響を大きく受けやすいことがある。例えば、数年間における試験結果を見ると、春夏の試験では優れた防除効果が見られるが、秋冬の試験では効果が得られない傾向が見られた。そもそも、無処理区のトマト黄化葉巻病の発病も気温や日照時間等の天候によって影響を受け、均

一な条件で栽培した同一品種のトマトでも個体ごとで発病程度が異なることがあった。そのような中では本剤の処理効果も判然としない場合もあり実証性の評価が困難となっている。この WP 製剤の効果が季節や植物の個体差の影響を受ける理由として、トマト葉に内在している水溶性アスコルビン酸（ビタミン C）含量が関係するのではないかと考えた。

そこで、室内試験で行ったトマト黄化葉巻病の発病と内在ビタミン C 量の相関について調べた研究について紹介する。この試験では、温室で栽培したトマト苗を用い、ウイルス接種は TYLCV 罹病トマト苗の茎を接木接種することで行い、ほぼ一定の条件で発病させるようにした。接種後の苗の管理は温度と照度を制御した室内で行った。温室での栽培条件、苗の大きさ、接木する際の物理的刺激、雑病害の発生、養分や水分条件、照度の不均一性等が発病に及ぼす要因として考えられたことから、これらの要素をできるだけ解消して試験を行った。しかし依然として発病に個体差があり、ウイルス接種と発病そして脂溶性アスコルビン酸誘導体処理の影響が相関しないことも多かった。そこで、脂溶性アスコルビン酸誘導体の防除効果試験に用いた全個体について、発病度の観察とともにトマト葉内のビタミン C を経時的に定量することにした。その結果、発病度と製剤処理に直接の相関は見られないものの、発病度と葉内ビタミン C 含量には明らかな相関が見られ、発病が起こるかどうかに内在ビタミン C 量の閾値がかかわることが示唆された。すなわち、葉内ビタミン C が多い個体は TYLCV に感染しても発病せず、少ない個体は発病することがわかった。表-2 はウイルス接種（A01～A25、製剤処理の有無は示していない）とウイルス無接種区（C01～

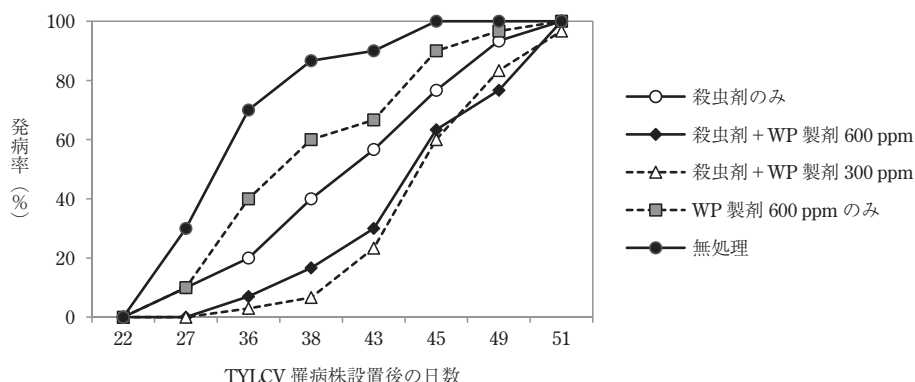


図-3 脂溶性アスコルビン酸誘導体 WP 製剤処理によるトマト黄化葉巻病の発病への影響

WP 製剤と殺虫剤の併用は発病を大幅に遅延させ、感染 40 日前後までは 20% 程度の発病率に抑制した。

表-2 トマト葉内のビタミン C 量とトマト黄化葉巻病の発病の関係

接種 2～4 週間後のトマト葉内の総ビタミン C 量が 460 ppm 以上存在する株では発病が認められず、460 ppm 未満の株では 3 週間目から発病が認められた。A01～A25 は TYLCV を接木接種した個体。C01～C05 はウイルス無接種個体。C05 は 5 週目に典型的な黄化葉巻の症状を示したが、ウイルスを接種していないので、温室栽培中に例外的にウイルスが感染してしまい、5 週目に病徴が顕在化してきたと考えられる。

	葉内の総ビタミン C 含量 (ppm)					2～4 週間 の平均	トマト黄化葉巻病の発病度 (0～2)				2～4 週間 の平均
	1 週間後	2 週間後	3 週間後	4 週間後	5 週間後		2 週間後	3 週間後	4 週間後	5 週間後	
A01	872	339	210	172	304	240	1	2	2	2	1.7
A02	876	393	253	200	753	282	1	2	2	2	1.7
A03	727	376	304	177	450	286	1	2	2	2	1.7
A04	807	435	249	271	391	318	0.5	2	2	2	1.5
A05	564	360	322	286	716	323	0.5	2	2	2	1.5
A06	651	443	305	316	841	355	1	2	2	2	1.7
A07	582	431	367	281	267	360	0	1	2	2	1.0
A08	751	498	215	396	1,068	370	1	2	2	2	1.7
A09	756	490	369	297	639	385	0.5	2	2	2	1.5
A10	882	381	316	459	550	385	0.5	1	2	2	1.2
A11	959	588	298	278	1,092	388	0.5	2	2	2	1.5
A12	706	538	297	345	351	393	0	2	2	2	1.3
A13	655	443	401	349	244	398	1	2	2	2	1.7
A14	1,083	446	374	408	472	410	0.5	2	2	2	1.5
A15	918	467	392	373	760	411	0.5	2	2	2	1.5
A16	503	570	302	364	596	412	0.5	2	2	2	1.5
A17	749	560	401	302	604	421	0.5	2	2	2	1.5
A18	676	587	388	306	788	427	0.5	2	2	2	1.5
A19	1,011	628	447	286	373	454	0	2	2	2	1.3
A20	588	575	287	571	592	478	0	0	0	0	0.0
A21	910	484	558	427	599	490	0	0	0	0	0.0
A22	980	693	464	337	342	498	0	0	1	1	0.3
A23	669	636	640	321	279	532	0	0	1	1	0.3
A24	849	794	554	386	854	578	0	0	0	0	0.0
A25	734	575	752	566	747	631	0	0	0	0	0.0
C01	946	853	303	368	342	508	0	0	0	1	0.0
C04	532	954	272	316	198	514	0	0	0	0	0.0
C02	637	756	458	440	402	551	0	0	0	0	0.0
C03	753	761	587	396	396	581	0	0	0	0	0.0
C05	948	1,126	522	522	265	723	0	0	1	2	0.3

C05) の 30 株について発病度とトマト葉内のビタミン C 量を経時的に示している。総ビタミン C 量の定量は葉内ビタミン C をすべて酸化型に変換し、加水分解後の生成物をジニトロフェニルヒドラジンと反応させて測定した。製剤処理の有無にかかわらず、ウイルスを接種した区では、接種 2～4 週間後のトマト葉内の総ビタミン C 量が 460 ppm 以上存在する株では発病が認められず、逆に総ビタミン C 量が 460 ppm 未満の株では 3 週間目から発病が認められた。なお、接木接種した苗を太陽光下の温室で栽培するとほとんど発病しないが、太陽光下でトマト苗を栽培すると葉内ビタミン C 量はおおむね 800 ppm 以上であった。この結果からも発病度と葉内のビタミン C 量に関連があることがわかる。また、室内の蛍光灯下にトマト苗を移動すると、温度や照度等が大きく変動するためか、総ビタミン C 量も変動することがわかった。

脂溶性アスコルビン酸誘導体はトマト葉内に取り込まれ、直ちに分解されて通常の水溶性アスコルビン酸すなわちビタミン C になると考えられる。このため、WP 製剤を 500 ppm 以上の高濃度で散布すればトマト黄化葉巻病の発病を完全に抑えることができると期待した。しかし前述のように防除効果は変動していた。植物細胞内のビタミン C には内生量を一定に保つ合成系と分解系があり、過剰なビタミン C 存在条件では分解系が強く働くと考えられる。このビタミン C 量の恒常的調節が脂溶性アスコルビン酸処理の効果を曖昧にさせているのではないかと考えられる。植物におけるビタミン C 代謝は複雑であり、外与の脂溶性アスコルビン酸誘導体が及ぼす内生ビタミン C 代謝系への影響は不明である。以上を総合すると、脂溶性アスコルビン酸誘導体を抗ウイルス剤として開発するポイントは、いかに植物体の内在性量を上昇させられるかにかかっていると結論できる。今後は、ビタミン C 代謝に関連する遺伝子の発現や他の要因についても検討し、どのような条件でも安定し

て抗ウイルス効果を発揮できるような脂溶性アスコルビン酸誘導体の実用的な処理法について検討していきたい。

おわりに

植物が本来備えているウイルス感染を防ぐためのメカニズム、RNA サイレンシングとウイルスの対抗戦略である RNA サイレンシングサプレッサー (RSS) の相互作用の研究を通して、RSS の活性を阻害する作用を持つ化合物としてアスコルビン酸およびその誘導体を見いだした。プロトプラスト評価系でアスコルビン酸誘導体の RSS 阻害効果を見た際には、濃度依存的な RSS 阻害効果が見られたが、茎頂培養時のウイルスフリー化や植物体における発病抑制効果を見た試験では濃度依存的な効果は認められなかった。これは、病原菌に直接影響する殺菌剤とは作用メカニズムが異なるためであると考えられる。アスコルビン酸誘導体処理は、RSS 阻害作用を通じて植物の RNA サイレンシングを促進・補強する作用を持つと考えられる。さらに我々は、茎頂組織の切り出しは植物ホルモンであるジャスモン酸を誘導し、このジャスモン酸によってアスコルビン酸が合成誘導され、さらに RDR6 の発現も誘導されることを見いだしている。詳細は省くが、RDR6 は RNA サイレンシングを増幅させる因子である。

以上のことを総合すると、アスコルビン酸誘導体を“茎頂処理の試薬”として、また“圃場で効果のある抗ウイルス殺菌剤”として植物に処理することは、非常に理にかなった有効なウイルス防除手法であると考ええる。このアスコルビン酸誘導体を実用的な「夢の抗ウイルス剤」として利用するため、今後も検討を重ねていく予定である。

引用文献

- 1) FUJIWARA, A. et al. (2013): J. Gen. Plant Pathol. **79**: 198～204.
- 2) GOTO, K. et al. (2007): Plant Cell Physiol. **48**: 1050～1060.
- 3) SHIMURA, H. et al. (2008 a): FEBS Lett. **582**: 4047～4052.
- 4) ——— et al. (2008 b): J. Gen. Plant Pathol. **74**: 326～330.