

キュウリモザイクウイルス Y サテライト RNA による タバコの黄化病徴の誘導機構の解析

植物育種科学講座 細胞工学分野
明星 亘俊

【背景・目的】

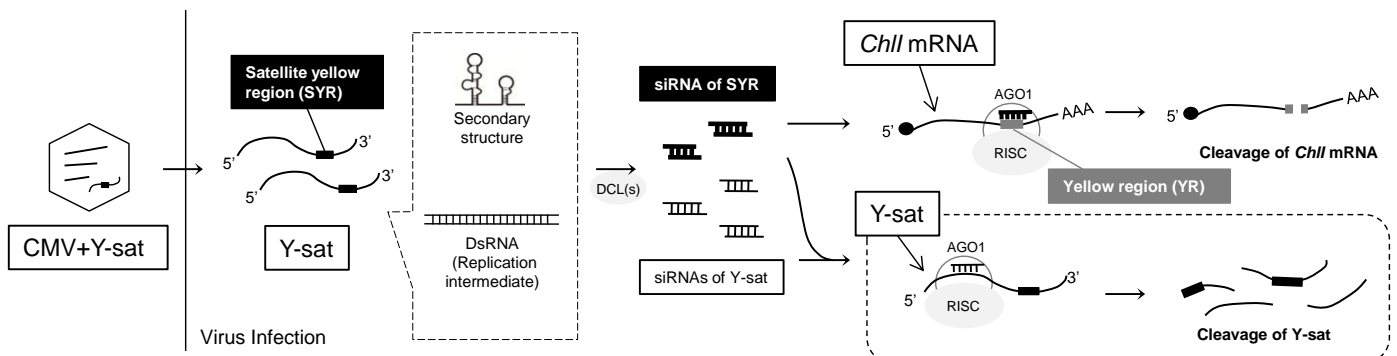
キュウリモザイクウイルス (*Cucumber mosaic virus*, CMV) Y サテライト RNA (Y-sat) は、タバコなど特定の宿主に対して黄化病徴を引き起こす。過去の研究によって、この病徴の誘導には配列特異的な RNA 分解により遺伝子の発現を抑制する RNA サイレンシングの関与が示唆されており、Y-sat がタバコの遺伝子を標的に RNA サイレンシングを引き起こすことが原因ではないかと考えられた。本研究では、Y-sat がタバコに誘導する黄化病徴の分子メカニズムの解明を目的として実験を行った。

【方法・結果】

Y-sat による RNA サイレンシングの標的遺伝子を特定するため、Y-sat inverted repeat 構造を発現する形質転換タバコ (16c:Y-satIR) を作出した。16c:Y-satIR では Y-sat 感染時と同様の黄化が観察され、またマイクロアレイ解析により mRNA の発現量を調べたところクロロフィル合成及び葉緑体形成に関与する多数の遺伝子の発現低下が観察された。その中の遺伝子を blast 解析した結果、タバコの遺伝子 Magnesium (Mg) protoporphyrin chelatase subunit I (*Chll*) が Y-sat と相補となる 22 塩基の領域 (Yellow region, YR) を持つことがわかった。qRT-PCR とノーザンブロットの結果からも Y-sat 存在下で *Chll* mRNA 発現量が低下することが確認された。そこで、Y-sat が感染しても黄化病徴を示さないトマトとシロイヌナズナの *Chll* YR と、それぞれ相補となるように Y-sat を改変した Y-sat mut-Tom、Y-sat mut-Ara1 を作成した。これをトマトとシロイヌナズナに接種したところ黄化病徴が観察された。また Y-sat mut-Tom、Y-sat mut-Ara1 を接種したタバコでは黄化病徴が見られなくなった。次に、Y-sat 感染タバコの short interfering RNA (siRNA) 解析を行ったところ、Y-sat の *Chll* と相補となる 22 塩基の領域 (Satellite yellow region, SYR) から siRNA が生成されていることが確認された。5' RACE 法により *Chll* mRNA の切断部位を同定したところ、*Chll* YR に 1 か所主たる切断部位があることがわかった。さらにアグロインフィルトレーションによる GFP-sensor 実験の結果、Y-sat 感染タバコにおいて YR を付加した GFP の発現部位で明らかに蛍光が弱まり、また GFP の RNA 量、タンパク質量共に減少していた。

【考察・結論】

Y-sat が宿主に感染すると、宿主の DICER-like タンパク質 (DCLs) により Y-sat RNA の二次構造もしくは複製中間体が切断され、Y-sat 由来の siRNA が生成される。通常はこの siRNA が Y-sat RNA 自身を標的として RNA サイレンシングを誘導する。本研究において、Y-sat SYR の siRNA がタバコなど特定の宿主の *Chll* mRNA の YR に偶然結合し、RNA サイレンシングを誘導した結果 *Chll* mRNA が切断されることが示された (下図)。これにより ChII タンパク質の生合成が抑制されクロロフィル量が減少するため黄化症状が現れることが明らかになった。



(図: *Chll* mRNA を標的とした Y-sat の RNA サイレンシング誘導機構のモデル)