

キュウリモザイクウイルス Y サテライト RNA によるタバコ黄化病徴の

誘導機構の解析

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 細胞工学 内尾 圭文

1. 緒言

植物ウイルスが宿主植物に感染すると様々な病徴を示す。病徴はしばしばウイルスと宿主の組み合わせに非常に特異的であることが知られている。病徴に影響を及ぼすウイルス因子や宿主因子、病徴を引き起こす分子メカニズムについて広く研究されているが未だに解明されていないものがほとんどである。キュウリモザイクウイルス (CMV) Y サテライト RNA (Y-sat) はタバコに鮮やかな黄化病徴を誘導することが分かっている。この特異的な病徴誘導に関する分子メカニズムはクロロフィル合成経路に重要な遺伝子である magnesium (Mg) protoporphyrin chelatase subunit I (*Ch1I*) 遺伝子をターゲットとして Y-sat siRNA が誘導する RNA サイレncing であることが証明された (Shimura et al., 2011)。今回の研究では RNA サイレncing に重要な要素である DCL2, DCL4, RDR6, そして AGO1 がどのように Y-sat 誘導黄化病徴に関わっているかを解析した。

2. 方法

野生型の *N. benthamiana* に CMV の Y 系統 (CMV-Y) の RNA2 の感染性 clone pCY2 の 2b ORF の 1/3 を欠失させ、mutiple cloning site を付加したウイルスベクターを用いてサイレンcing に関わる因子 DCL2, DCL4 そして RDR6 を Virus induced gene silencing (VIGS) した。そして RDR6 をサイレンcing した形質転換体 RDR6i に Y-sat と上記組み換え CMV を接種し RDR6 と黄化病徴の関わりを調べた。また VIGS された植物体の Y-sat 由来の small interfering RNA (siRNA) を解析することで黄化病徴との関係性を調べた。

3. 結果と考察

siRNA 生産に関わる DCL2, DCL4 を VIGS することで Y-sat の黄化病徴の発現は遅くなった。このことから DCL2, DCL4 はこの黄化病徴に重要な役割を持っていることがわかった。RDR6i に RDR6 を VIGS を起こす CMV を接種すると Y-sat が誘導する黄化病徴はより激しいものとなった。しかしこれは RDR6 がサイレンcing されたことにより CMV の蓄積量が増加し、それに伴って Y-sat の蓄積量も増加したからではないかと考えられる。また *in vitro* で合成した AGO1 と *Ch1I* RNA の特異的な切断が起きることを Y-sat と *Ch1I* mRNA の相補的配列を持つ合成 RNA 2 本を混合することによって確認した。

4. まとめ

CMV Y-sat が誘導する黄化病徴は Y-sat の二次構造や複製中間体を DCL2, DCL4 が認識して切断し、生産された siRNA を AGO1 が取り込んで相補な配列を持つ *Ch1I* mRNA を分解していることを証明した。また、この黄化病徴に関して RDR6 は間接的に関与していることを明らかにした。