

キュウリモザイクウイルスサテライト RNAS19 が 病徴を激化させるメカニズムの解析

生物資源科学専攻 植物育種学講座 植物病原学 林 勇作

1. はじめに

キュウリモザイクウイルス (CMV) は数ある植物ウイルスのなかで最も宿主範囲の広いウイルスである。この CMV 粒子中にはサテライト RNA と呼ばれる低分子 RNA が含まれることがあり, CMV の蓄積を抑え, 一般的には CMV の病徴を軽減させる。しかし, S19 サテライト RNA (S19sat) は野生タバコのベンタミアーナ (*N. benthamiana*) に感染した CMV の病徴を激化させ, 顕著な矮化と葉の奇形症状を誘導した。この病徴の激化はタバコ (*N. tabacum*) では観察されなかった。本研究では, ベンタミアーナにおける S19sat の病徴誘導のメカニズムについて分子レベルでの解明を試みた。

2. 方法

RNA-seq と siRNA-seq のデータをもとに, CMV 感染ベンタミアーナ個体と S19sat 感染個体の mRNA 及び miRNA の発現量を比較した。S19sat 感染個体においてジャスモン酸 (JA) 誘導性 PR タンパク質遺伝子の mRNA 発現量が低下し, miR319a が高く発現していることが判明した。次に CMV, CMV+S19sat, CMV+Y サテライト RNA (Ysat) をベンタミアーナに接種し, 健全個体と感染個体の JA と拮抗関係にあるサリチル酸 (SA) に関与する遺伝子と miR319a 及びそのターゲット遺伝子である TCP 転写因子遺伝子の mRNA 発現量について, real time RT-qPCR または Northern hybridization により解析した。さらに CMV の病徴を軽減する T73 サテライト RNA (T73sat) と S19sat のゲノム塩基配列を組み換えたキメラサテライト RNA を作製し, ベンタミアーナに接種して病徴観察を行い, ウイルス及びサテライト RNA の蓄積レベルを real time RT-qPCR により解析した。

3. 結果と考察

①SA 経路に関与する遺伝子の mRNA 発現量解析 接種後 7 日目の S19sat 感染個体において SA 生合成酵素である *PAL* 遺伝子がコントロール個体より有意に高く発現していた。接種後 14 日目の S19sat 感染個体においては, 健全個体と CMV 感染個体よりも SA 不活化酵素である *SGT* 遺伝子の発現量が有意に減少していた。S19sat 感染個体では実際 SA が高いレベルで蓄積していた (増山 平成 29 年度修士論文)。

②miR319a 及び TCP 転写因子遺伝子の発現量解析 接種後 14 日目の S19sat 感染個体において miR319a はコントロール個体と比較して高いレベルで発現していた。また *TCP2* 遺伝子と *TCP4* 遺伝子の mRNA 発現量はコントロール個体と比較して有意に減少していた。TCP 転写因子は葉の形態形成を制御することから, miR319a が過剰に発現し TCP 転写因子遺伝子の発現量を低下させることで葉の奇形症状が誘導されると考えた。

③S19sat-T73sat キメラサテライト RNA 接種試験 S19sat の 94 番目から 207 番目のゲノム塩基配列をもつキメラサテライト RNA 感染個体で葉の奇形症状が観察されたことから, S19sat の 94 番目から 207 番目のゲノム塩基配列が病徴の激化を特異的に決定づけると考えた。

4. まとめ

S19sat が誘導する CMV による病徴の激化は, SA が高いレベルで蓄積すること, 及び miR319a が過剰発現し, *TCP2* と *TCP4* 遺伝子の発現量が低下することで引き起こされると結論した。また, 病徴の激化は S19sat の 94 番目から 207 番目のゲノム塩基配列により特異的に決定されることが判明した。