学術奨励賞研究要旨

キュウリモザイクウイルスサテライト RNA の 機能に関する研究*

増 田 税**

Chikara MASUTA** : Studies on Functions of Satellite RNAs of Cucumber Mosaic Virus

キュウリモザイクウイルス (CMV) は多くの主要作物に甚大な被害を与える病原ウイルスで、極めて広い宿主範囲を有する。CMV の分離株によっては、サテライト RNA と呼ばれる低分子 RNA が存在し、これによって CMV の複製は抑制されて、多くの場合 CMV の病徴が軽減される。Y サテライト RNA は CMV に感染したタバコに鮮黄色モザイクを、またトマトでは茎えそを誘導する。本研究は、特に、この Y サテライト RNA の塩基配列のどの部分が上記病徴誘導に関与しているかを解析し、最終的には、CMV、Y サテライト RNA および寄主植物の三者間で、どのような要因がそれら病徴誘導に関与するのか分子レベルでの解明を目指して行われた。さらに、サテライト RNA を発現する形質転換植物を作出し、サテライト RNA を利用して CMV を防除することの有用性に関しても検討した。

1. Y サテライト RNA の生物学的性質

天然ならびに cDNA より試験管内で合成したサテライト RNA は CMV-Y との組合せでトマトに確かな茎えそを引き起こしたが、CMV-O との組合せでは、トマトでのえそ発現が明瞭ではなかった。さらに観察されたえその程度は、トマトの系統によって大きく異なることが判明し、病徴誘導が、サテライト RNA とヘルパーウイルスと宿主の三者間の相互関係によって決定されることが明らかになった。また、Y サテライト RNA の cDNA を組み込んだ形質転換タバコを作出し、その病徴を観察した。CMV を接種しない形質転換植物は、非形質転換植物と差異は認められず、CMV を接種すると典型的な黄化症状を示した。このことから黄化誘導には少なくとも CMV ゲノム RNA が関与し、さらにサテライト RNA 分子の大量の蓄積が必要であることが明らかになった。

2. 病徴誘導に関与する Y サテライト RNA の塩基配列領域

Y サテライト RNA の複製ならびに病徴誘導に関与する領域を決定するために、cDNA から感染性のある転写 RNA を試験管内で合成する系を用いて、塩基配列を遺伝子操作し、種々のミュータントを作製した。トマトでえそを誘導するために必要な保存領域は、320 番目近傍の塩基配列に存在するようであり、例え

ば、325 番目のシトシン残基をウラシル残基に変換するとえそ誘導能は消失した。また、黄色病徴に関与する領域については、Y サテライト RNA と相同性が高いが、黄色病徴を誘導しない S19 サテライト RNA を使用して黄化誘導の制御領域を決定した。Y サテライト RNA の 191~193 番目の塩基を S19 サテライト RNA 型に変えると、その表現型は、S19 サテライト RNA 型に変化し、黄色病徴を誘導しなかった。また逆に、S19 サテライト RNA の 192~193 番目の塩基を Y サテライト RNA 型に変えた場合は、Y サテライト RNA と同様の黄色病徴を誘導した。すなわち、わずか 2~3 塩基の相互置換が病徴の表現型の相互置換をもたらすことが実証された。

3. T73 サテライト RNA を導入した形質転換植物の CMV 抵抗性

1) CMV サテライト RNA の採集と解析

CMV サテライト RNA による CMV 病徴抑制効果を CMV 防除に役立てるために、栃木県宇都宮市近辺の圃場で分離された数種のサテライト RNA の性質について詳細に検討した。採集株の中から、T73-satRNA を最終的に選抜し、以後、このサテライト RNA の cDNA を植物に組み込む試みを行った。T73-satRNA は、タバコではもちろんトマトにおいても CMV 病徴軽減能が非常に優れている。

2) CMV 抵抗性タバコおよびトマトの作出

アグロバクテリウムを介した形質転換法によって、タバコ BY-4 ならびにトマトの核遺伝子に T73-satRNA の cDNA を組み込んだ形質転換植物を作出した。形質転換体では、CMV を接種したときにのみ、サテライト RNA が活性化され、速やかに出現して、予想通り CMV の病徴を軽減した。タバコについては、ホモに固定し、5 世代にわたって、挿入したサテライト遺伝子の安定性を追跡調査した結果、全く変異を起こしていないということが判明した。

本研究を行うにあたり、九州大学農学部助教授高浪洋一博士、日本たばこ生命科学研究所小岩井 晃博士、桑田 茂博士にご指導とご鞭撻をいただいた。また、北海道大学農学部名誉教授四方英四郎博士、教授木村郁夫博士、助教授上田一郎博士には、終始励ましをいただいた。ここに記して深く感謝の意を表する。

* 平成 5 年 4 月 3 日 平成 5 年度大会で受賞した学術奨励賞研究の要旨

** 日本たばこ生命科学研究所 Life Science Research Lab., JT, 6-2 Umegaoka, Midori-ku, Yokohama 227, Japan