学術奨励賞受賞者研究要旨

ウイルス遺伝子導入によるウイルス抵抗性の付与とジーンサイレンシングに関する研究[†]

園 田 昌 司*

SONODA, S.*: Studies on virus resistance and gene silencing in transgenic plants with viral genes

ウイルス遺伝子導入植物におけるウイルス抵抗性は、主に翻訳産物（タンパク質）とRNAの2つのレベルで作用すると考えられている。後者では、転写後抑制型ジーンサイレンシング（PTGS）と呼ばれる植物に本来備わった機構により、ウイルス抵抗性が示される場合が多い。

本研究ではサツマイモ斑紋モザイクウイルス（SPFMV）の外被タンパク質（CP）やPTGSの抑制因子として注目されているヘルパー成分（HC-Pro）遺伝子で植物を形質転換し、ウイルス抵抗性システムの解析を詳細に行い、その抵抗性メカニズムの一端を解明した。

1. PTGSによるウイルス抵抗性と導入遺伝子のメチル化の解析

SPFMVのCP遺伝子で形質転換された *Nicotiana benthamiana* から、CP遺伝子が組み込まれた組み換えジャガイモウイルスX（PVX）に対して抵抗性を示すものをPTGSシステムとして選抜した。それぞれのPTGSシステムには複数のCP遺伝子が組み込まれており、導入遺伝子のmRNAおよび翻訳産物はほとんど検出されなかった。PTGSシステムは、CP mRNAの分解に関して、認識領域の異なる2つのグループに分類され、認識領域に相当する導入遺伝子DNAは高度にメチル化されていた。この結果は、PTGSと導入遺伝子のメチル化の関連を示唆している。

PTGSが他のPTGSシステムに比べ、遅れて起こるシステムを

用いて、導入遺伝子のメチル化を経時的に調べた。その結果、PTGSの誘導には発育に伴って生じる新たな導入遺伝子のメチル化が関係していることが明らかとなった。

PTGSシステムおよびCPが高度に発現している非PTGSシステムを用いて、SPFMVの近縁ウイルスに対する抵抗性を調べた。その結果、PTGSシステムは導入遺伝子と塩基配列レベルで70-77%の相同性を示すウイルスに対して部分的な抵抗性を示した。また、その抵抗性の程度は非PTGSシステムのタンパク質を介した抵抗性と同等であった。

2. 接木によるPTGSの解析

上記のPTGSシステムおよび非PTGSシステムを用いて、接木によるPTGSの移行について解析した。その結果、1) PTGSは接木によってPTGSシステムから非PTGSシステムに移行するが、PTGSシステムを台木に用いた場合において効率的に移行すること、2) 接木によるPTGSの誘導には導入遺伝子の存在が必須であるが、この場合導入遺伝子のメチル化は関与していないこと、3) ひとたび接木によって非PTGSシステムに誘導されたPTGSは、台木を非PTGSシステムに換えても維持されたが、次世代には遺伝しないこと、4) PTGSのRNA分解に関するmRNAの認識領域は台木であるPTGSシステムによって決定されること、5) 認識領域の異なるPTGSシステム同士を接木しても認識領域に変化は見られず、PTGSシステムにおいては接木によって同じ塩基配列に関する新たなPTGSは誘導されないことが明らかとなった。

[†] 平成13年4月2日 平成13年度大会で受賞した学術奨励賞研究の要旨

* 岡山大学資源生物科学研究所 Research Institute for Bioresources, Okayama University, Kurashiki 710-0046, Okayama, Japan

3. HC-Pro のアンチセンス遺伝子によるウイルス抵抗性と HC-Pro のウイルス全身移行機能への関与

SPFMV の HC-Pro のアンチセンス遺伝子を高度に発現するタバコは、異種ウイルスであるジャガイモウイルス Y に対して低いレベルではあるが抵抗性を示した。

ポティウイルスである SPFMV と異種ウイルスである PVX を同時に接種すると、それぞれを単独で接種した場合よりも激しい病徴が *N. benthamiana* およびアサガオで

認められた。HC-Pro 遺伝子が組み込まれ、HC-Pro を発現している組み換え PVX はアサガオにおいて上位葉へのウイルス移行が促進された。この結果は、HC-Pro はウイルスの移行に関与していることを示唆している。

本研究を行うにあたり、ご指導、ご鞭撻を賜った農業生物資源研究所西口正通博士に感謝の意を表する。