

## 参考資料

# ウイルスが決まった植物種にしか感染しないしくみを発見

## 開発の社会的背景

ほとんどすべての作物はウイルスにより収量低下等の被害を受けます。ウイルス病対策として、多くのウイルス抵抗性遺伝子が様々な作物品種に導入され、ウイルス病の被害軽減に貢献してきました。しかし、抵抗性を打破する能力をもった変異ウイルスの出現がしばしば問題となっています。また、有効な抵抗性遺伝子が見つからないウイルスも数多く存在します。

一方、ウイルスは限られた範囲の宿主生物種にしか感染しないため、それぞれの生物種はほとんどのウイルスの感染を受けつけません。ある植物種の全ての個体が特定のウイルスの感染を受けつけないとき、その植物種は当該ウイルスの「非宿主」と言い表されます。抵抗性遺伝子によるウイルス抵抗性と異なり、ウイルスは容易には非宿主に感染できるように変異しないため、非宿主における抵抗性機構の解明は、打破されにくいウイルス抵抗性作物の作出につながると期待されます。しかし、このような抵抗性の解析は難しく、非宿主においてウイルスが増殖できない原因は解明されていませんでした。

## 研究の経緯

トマトモザイクウイルス(ToMV)はトマトに感染しますが、抵抗性遺伝子 *Tm-1* を持つトマトには感染することができません。私たちは以前の研究で、*Tm-1* の遺伝子産物 (Tm-1 タンパク質) が、ToMV の複製タンパク質に結合してその機能を阻害することを明らかにしました (平成 19 年 8 月 9 日当研究所プレスリリース)。普通の栽培トマトにも *Tm-1* と塩基配列がよく似た *tm-1* 遺伝子が存在しますが、*tm-1* タンパク質は Tm-1 タンパク質と違って ToMV の複製タンパク質に結合することができないため、ToMV の増殖を阻害することはありません。

タバコマイルドグリーンモザイクウイルス (TMGMV) とトウガラシマイルドモットルウイルス (PMMoV) は、ToMV と近縁のウイルスで、それぞれトマトと同じナス科の植物であるタバコおよびピーマンに感染します。しかし、知られる限り、トマトのどの品種にも感染することができません。今回私たちは、*tm-1* タンパク質が TMGMV および PMMoV の増殖を阻害していると考え、その可能性を検討しました。

## 研究の内容・意義

トマトの *tm-1* 遺伝子を発現する形質転換タバコを作製し、これに TMGMV および PMMoV を接種したところ、どちらのウイルスの増殖も阻害されました (図 1)。また、*tm-1* タンパク質は TMGMV および PMMoV の複製タンパク質に結合してウイルス RNA の複製反応を阻害したことから、*tm-1* 発現タバコにおける TMGMV および PMMoV の増殖阻害は、Tm-1 タンパク質による ToMV の増殖阻害と同様の機構によるものと考えられました。

TMGMV を接種した *tm-1* 発現形質転換タバコを長期間栽培したところ、稀に TMGMV の増殖が検出されることがありました。増殖してきた TMGMV を解析したところ、複製タンパク質に変異が起こり、*tm-1* タンパク質による増殖阻害が起こらないことがわかりました。この変異株がトマトにおいて増殖するかどうかを検証しました。まず、トマトのプロトプラストに接種したところ、この変異株は ToMV と同等の効率で増殖しました。このことから、トマトの細胞内で TMGMV の増殖を抑制していた主要な因子は *tm-1* タンパク質であることがわかりました。これは、非宿主植物においてウイルスが増殖できない原因を明らかにした初めての例です。さらに、この TMGMV 変異株をトマト植物に接種したところ、増殖して全身感染したものの、その増殖効率は著しく低いものでした。この結果は、

トマトには *tm-1* タンパク質による複製の阻害に加えて、TMGMV が植物体の中で増え拡がることを抑制する機構が存在することを示唆しています。このように、独立した複数の機構が同時に存在することが、ウイルスが非宿主生物種に容易には適応できない要因となっていると考えられます。

ウイルスは自身のゲノムに限られた遺伝情報しかもたず、多くの宿主側の因子を利用して増殖します。このため、これまで、非宿主生物において、ウイルスは、このような因子をうまく利用できないために増殖できないのではないかと想像されていました。これに対し今回の結果は、非宿主生物の細胞内に、ウイルス因子と結合することにより阻害的に働く因子が存在することを示すものです（図 2）。また、ToMV の複製タンパク質は *tm-1* タンパク質と結合せず、ToMV の増殖は *tm-1* 発現形質転換タバコにおいても阻害されなかったことから、ToMV はトマトに適応する過程で、*tm-1* タンパク質との結合から逃れるように進化してきたことが示唆されました。

## 今後の予定・期待

本研究によって、非宿主生物の細胞中に、ウイルス因子に結合してその機能を阻害するようなタンパク質が存在すること、一方でウイルスがある生物種で増殖を遂げるためには、そのような阻害因子から逃れるように適応する必要があることが初めて明らかになりました。これまでのほとんどのウイルス研究は、着目するウイルスが増殖可能な宿主を用いて行われてきたために、このような阻害機構は知られていませんでした。今後、非宿主生物種に着目することによって、これまでに有効な抵抗性遺伝子が見つかっていないウイルスに対しても、そのウイルスに有効な阻害因子を発見することができるのではないかと期待されます。また、複数の抵抗性因子を同時に導入することにより、非宿主によるウイルス抵抗性を模した、打破されにくいウイルス抵抗性作物が作出できると考えられます。

## 用語の解説

<宿主・抵抗性遺伝子・非宿主>

あるウイルスが増殖可能な生物種を宿主とよぶ。宿主生物種の中にそのウイルスの増殖を許容しない系統が存在し、抵抗性が特定の遺伝子によって支配されているとき、その遺伝子をウイルス抵抗性遺伝子とよぶ。一方、植物種のどの個体もあるウイルスの感染を受けつけない場合、その植物種を当該ウイルスの「非宿主」とよぶ。非宿主においてウイルス抵抗性を支配する因子は解析が困難であるため、同定された例がなかった。

<プロトプラスト>

植物細胞の細胞壁を酵素（セルラーゼ等）で分解することによって得た裸の単一細胞。プロトプラストへは電気穿孔法（エレクトロポレーション）などにより遺伝子あるいはウイルス RNA を直接導入することができる。プロトプラストを用いたウイルスの増殖実験系は、植物ウイルス研究所（農業生物研究所の前身）の建部らによって開発され、ウイルス増殖機構の研究に広く用いられている。

【参考説明図】

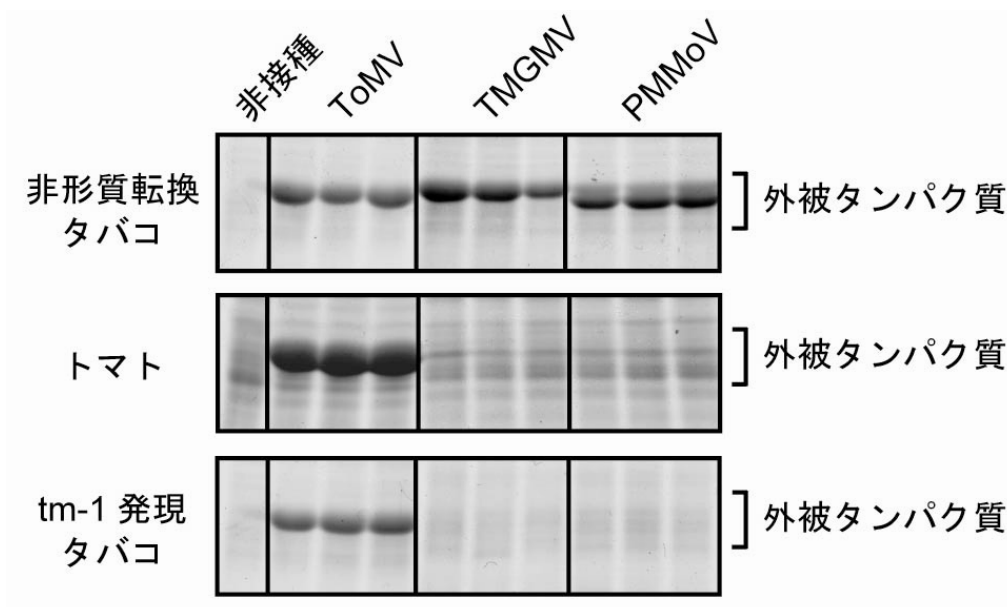


図1. *tm-1*発現タバコにおける TMGMV および PMMoV の増殖

非形質転換タバコ、トマト、および *tm-1* 発現形質転換タバコに、ToMV、TMGMV、および PMMoV を接種し、ウイルス外被タンパク質の蓄積を検出することによってウイルスの増殖を調べた。

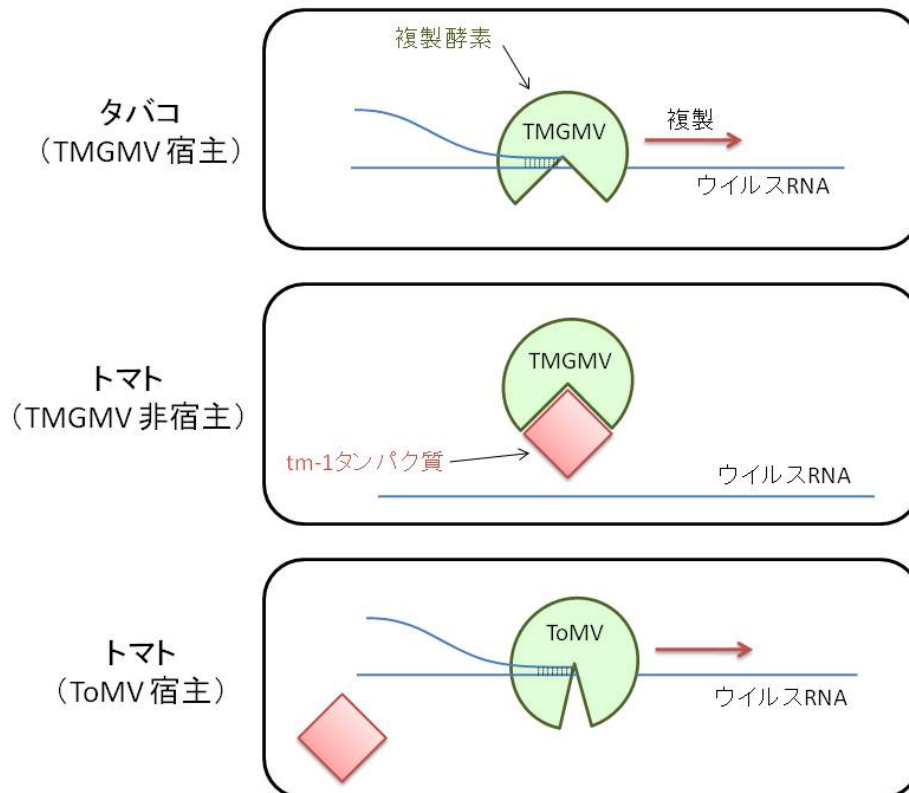


図 2. TMGMV がトマトで増殖できないしくみ

宿主細胞の中で、ウイルスゲノム (RNA) は複製酵素の働きにより複製する。TMGMV の非宿主であるトマトの細胞内では、tm-1 タンパク質が TMGMV の複製酵素に結合してその働きを阻害するために複製は起きない。トマトを宿主とする ToMV の複製酵素は、tm-1 タンパク質との結合から逃れるように適応しており、複製することができる。