

■ 研究課題名

植物ウイルスの媒介昆虫・植物間応答機構の解明と制御技術の開発

■ 研究の目的

昆虫により媒介される植物ウイルスについて、昆虫・植物両感染細胞内でのウイルス分子の動態追跡、昆虫側のウイルス媒介に関与する因子の同定、植物側の病徴発現遺伝子及び新規病害抵抗性遺伝子の同定を行い、ウイルスと宿主細胞因子群のせめぎ合いのダイナミズムを体系的に解明し、植物への耐病性導入戦略を構築する。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①植物ウイルスの感染・複製機構の解明及び抵抗性組換え植物の開発
（◎大村敏博 / 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構
中央農業総合研究センター）
- ②マイクロアレイ法を用いたウイルス応答反応の解析と育種への応用
（菊池尚志 / 独立行政法人農業生物資源研究所）



大村敏博

■ 研究の内容・主要な成果

- ①イネ萎縮ウイルス（RDV）の12種タンパク質の複製過程における機能と役割を解析し、ウイルス複製に重要な役割を果たすタンパク質遺伝子をRNA干渉の標的として強度抵抗性イネを作出するための方法論を確立した。
- ②イネ縞葉枯ウイルス（RSV）の7種タンパク質各々の機能を抑制する形質転換イネを作出、抵抗性誘導に効果的な標的ウイルス機能の同一ウイルスグループ内での共通性を明らかにし、新たな耐病性導入戦略を構築した。
- ③イネの防御系遺伝子がウイルス共通的に応答し、抵抗性イネ作出に共通の標的となる可能性が示唆された。
- ④イネツングロ球状ウイルス（RTSV）の抵抗性関与遺伝子を同定、RNA干渉法による抵抗性イネ作出法を開発した。
- ⑤これら手法によってアジアに発生する主要6種イネウイルスに対する強度抵抗性イネを作出した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

農業現場での効果的利用に視点を据えた原子・遺伝子・分子レベルから生物の表現型解析に至る多様な基礎研究に立脚し、新たな耐病性導入戦略を構築する本研究手法は、世界のウイルス病制御手法の開発に新たな視点と方法論を提供するものである。特に、ウイルスの複製過程において重要な役割を果たすウイルス遺伝子をRNA干渉の標的とする手法は、作物に殆ど負荷を与えず、草型は原品種と差異がなく、抵抗性は5世代以上遺伝し、かつ複数のウイルス制御が可能であるなど極めて良好な結果を得ており、国際的にも広く利用されるものと考えられる。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Shimizu T., et al. Silencing by RNAi of the gene for Pns12, a viroplasm matrix proteins of *Rice dwarf virus*, results in strong resistance of transgenic rice plants to the virus. *Plant Biotechnol. J.* 7: 24-32 (2009)
- ②Lee J.-H., et al. Single nucleotide polymorphisms in a gene for translation initiation factor (eIF4G) of rice (*Oryza sativa*) associated with resistance to *Rice tungro spherical virus*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23: 29-38 (2010)
- ③Wei T., et al. Three-dimensional analysis of the association of viral particles with mitochondria during the replication of *Rice gall dwarf virus*. *J. Mol. Biol.* 410: 436-446 (2011)
- ④Satoh K., et al. Relationship between symptoms and gene expression induced by the infection of three strains of *Rice dwarf virus*. *PLoS One* 6: e18094 (2011)
- ⑤Shimizu T., et al. Targeting specific genes for RNA interference is crucial to the development of strong resistance to *Rice stripe virus*. *Plant Biotechnol. J.* 9: 503-512 (2011)








■ 研究成果の具体的図表

植物ウイルスの媒介昆虫・植物間応答機構の解明と制御技術の開発

宿主植物及び媒介昆虫-ウイルス間の発病・媒介機構等の体系的理解による防除法の開発が急務

アジア地域で発生する9種イネウイルス

これら全てのイネウイルスは媒介昆虫によって伝搬される

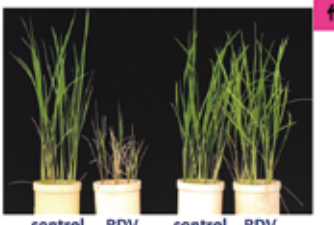
dsRNA (ds:2本鎖)		<i>Phytoreovirus</i>	<i>Rice dwarf virus</i> (RDV)
			<i>Rice gall dwarf virus</i> (RGDV)
		<i>Fijivirus</i>	<i>Rice black streaked dwarf virus</i> (RBSDV)
		<i>Oryzavirus</i>	<i>Rice ragged stunt virus</i> (RRSV)
-ssRNA (ss:1本鎖)		<i>Nucleorhabdovirus</i>	<i>Rice transitory yellowing virus</i> (RTYV)
		<i>Tenuivirus</i>	<i>Rice stripe virus</i> (RSV)
			<i>Rice grassy stunt virus</i> (RGSV)
+ssRNA		<i>Waikavirus</i>	<i>Rice tungro spherical virus</i> (RTSV)
dsDNA		<i>Tungrovirus</i>	<i>Rice tungro bacilliform virus</i> (RTBV)



dsRNAウイルス抵抗性導入戦略

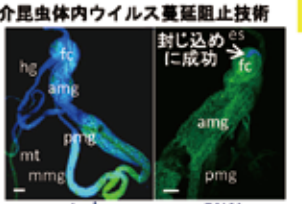
感染に関する宿主遺伝子の探索及びその遺伝子破壊イネが示す抵抗性

構築 作出



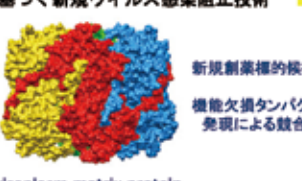
媒介昆虫体内ウイルス蔓延阻止技術

構築




ウイルス複製工場の三次元構造解析に基づく新規ウイルス感染阻止技術

構築



ウイルス複製工場の分子解剖結果から考案したRNA干渉イネの完全抵抗性

構築 作出

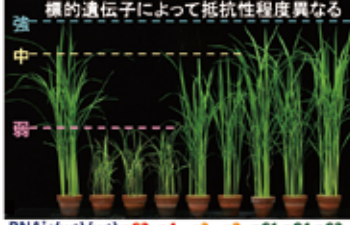


-ssRNAウイルス抵抗性導入戦略

RNA干渉的ウイルス遺伝子の選抜

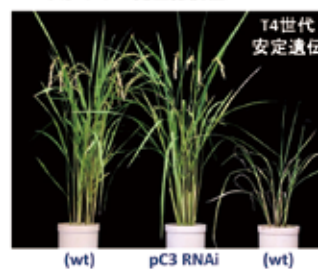
構築

標的遺伝子によって抵抗性程度異なる



感染にキーとなる遺伝子に対するRNA干渉イネの完全抵抗性

構築 作出



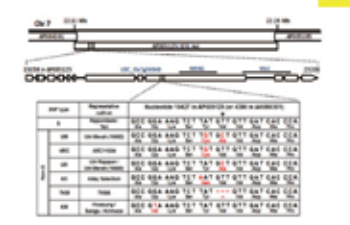
ツングロウイルス抵抗性導入戦略

RTBV抵抗性遺伝子のマッピング

構築

RTSV抵抗性遺伝子の同定・単離

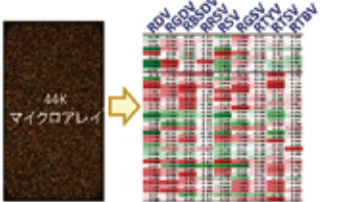
構築



新規防御関連遺伝子を用いた戦略

構築


44Kマイクロアレイシステムによるウイルス感染に伴う病徴発現遺伝子及び防御関連遺伝子を選抜



複合ウイルス抵抗性導入戦略





2種ウイルスに対する完全複合抵抗性

構築 作出



同一昆虫媒介性複数ウイルスに応用可能

媒介昆虫 ウイルス

-  *Rice black streaked dwarf virus* (RBSDV)
-  *Rice stripe virus* (RSV)
-  *Rice ragged stunt virus* (RRSV)
-  *Rice grassy stunt virus* (RGSV)

期待される農業分野への貢献と波及効果

- ウイルス病制御手法に新たな視点と方法論を提供
- 抵抗性導入戦略を各種栽培品種へ応用することにより安定的な食料生産に貢献