

機関番号：10101

研究種目：基盤研究 (S)

研究期間：2006～2010

課題番号：18108001

研究課題名 (和文) ウイルスにコードされるジーンサイレンシング抑制遺伝子による植物遺伝子発現修飾機構

研究課題名 (英文) Modification of plant gene expression by viral gene silencing suppressors

研究代表者

上田 一郎 (UYEDA ICHIRO)

北海道大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：10113523

研究成果の概要 (和文)：植物のサイレンシング (PTGS) はウイルスに対する普遍的な防御機構である。PTGS がウイルスの病原性にどのように関与するか解析し、以下ことを明らかにした。

(1) *HC-Pro* 遺伝子の PTGS 抑制能がクローバ葉脈黄化ウイルス (CIYVV) によるえそ病徴発現に必要であること。(2) タバコのカルモジュリン様タンパク *rgs-CaM* は多くの PTGS 抑制遺伝子と親和性を有し、それら結合タンパク質を不安定化することで、宿主の PTGS 活性を高めること。(3) キュウリモザイクウイルスのサテライト RNA (CMV Y-satRNA) がキュウリモザイクウイルス (CMV) 感染タバコの緑色モザイクが鮮黄色モザイクに変化させる分子機構。

研究成果の概要 (英文)：Plants defense against virus infection by Post Transcriptional Gene Silencing (PTGS). We analyzed how PTGS was involved in pathogenicity and obtained the following results.

(1) Suppressor activity of viral *HC-Pro* gene is required for induction of necrotic symptoms. (2) *rgs-CaM* gene has affinity to many viral suppressor genes. Its interaction destabilizes bound proteins and consequently strengthen defense against virus infection by elevating PTGS activity. (3) Y satellite RNA of cucumber mosaic virus (Y-satRNA) induces bright yellow mosaic in tobacco instead of regular green mosaic. Molecular mechanism of how Y-satRNA induces yellow mosaic is elucidated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	29,900,000	8,970,000	38,870,000
2007 年度	17,600,000	5,280,000	22,880,000
2008 年度	9,700,000	2,910,000	12,610,000
2009 年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
2010 年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
総計	74,800,000	22,440,000	97,240,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：病原体相互作用、病原性因子、サイレンシング、ウイルス

1. 研究開始当初の背景

植物のウイルス病に対する抵抗性機構のひとつとして転写後ジーンサイレンシング (PTGS) がある。転写後ジーンサイレンシングでは、RNA をゲノムに持つウイルスが感染すると、ウイルス RNA を分解し、抵抗性を発揮する。これが植物の主要な抵抗性機構である証拠に、既に 30 以上のウイルスから

PTGS を阻害または抑制する遺伝子が見つかっている。さらに、これらの遺伝子の多くは以前の研究で病徴発現に関与していることが報告されている。

2. 研究の目的

植物の PTGS はウイルスに対する普遍的な防御機構であり、多くのウイルスは PTGS 抑制遺伝子を持ち対抗している。(1)本研究では、

ウイルスによる病原性が、PTGS を介した植物-ウイルスの相互作用でどこまで説明できるのか検証する。(2)複数の宿主・PTGS 抑制遺伝子やその変異遺伝子を用いて、サイレンシング抑制遺伝子が作用する植物のターゲット因子を特定して、その影響を解析する。

3. 研究の方法

病原性は、複数のウイルス遺伝子と宿主遺伝子の複雑な相互作用の結果であり、これを分子レベルで解析することは難しいと思われてきた。しかし PTGS が発見され、またウイルスが PTGS 抑制遺伝子をコードすることが明らかになって、病原性が PTGS の分子機構で説明できる可能性が開けてきた。ここでは、PTGS でどこまで病原性が説明できるかを見極める。実験にはポティウイルス属のクロバ葉脈黄化ウイルス (C1YVV) (研究代表者上田/中原) とキュウリモザイクウイルス (CMV) (研究分担者増田) を用いる。また植物の PTGS 調節遺伝子として単離された rgs-CaM の機能解析を、ウイルスの PTGS 抑制遺伝子との関係において行う。具体的には以下のように行う。

(1) C1YVV の病原性解析 (上田・中原)

C1YVV の HC-Pro が PTGS 抑制能を持つことは知られているので、この遺伝子に変異を導入して様々な程度の抑制能をもつウイルス変異株を作成して、これをエンドウに接種してえそ病徴を起こす能力と PTGS 抑制能力の相関を調べる。また遺伝学的交配実験からエンドウのえそ病徴に関与する宿主因子の解析と、mRNA の発現解析からえそ病徴誘導に関する宿主遺伝子の生理学的を明らかにする。

(2) ショウジョウバエのジーンサイレンシング (RNAi) 抑制システムを中心にした HC-Pro/ rgs-CaM の機能解析 (中原)

当初、RNAi 変異体 (Cell 117: 69-81, 2004) と組み合わせた生化学・分子遺伝学解析により詳細に RNAi 抑制 (PTGS 抑制) の分子機構を調べる実験系を、植物ウイルスの RNAi 抑制遺伝子 (C1YVV の HC-Pro/rgs-CaM) に利用して解析した。その解析の一方で、siRNA と PTGS 抑制遺伝子との結合実験から rgs-CaM が抗ウイルス機能に関する新規な機能を持つ可能性を見出した。それが、本研究の趣旨の1つ、ウイルスの PTGS 抑制遺伝子が作用する宿主側のターゲット因子を見つけることと合致していたことから、計画を変更し解析を進めウイルス PTGS 抑制遺伝子に対抗する未知の防御機構およびその中で rgs-CaM の役割について新たな仮説を提唱する。

(3) CMV の病原性解析 (増田)

CMV の Y サテライト RNA (Y-sat) は CMV 感染タバコを鮮黄色に変化させる。以前の研究で、この病徴変化が宿主の PTGS によって引き起こされることが明らかになっていた。今回、この分子メカニズムの全容を解明するため

に以下の仮説を立てた。「Y-sat は増殖したときに PTGS によって切断され、大量の siRNA を生産する。この中に、宿主の遺伝子 (おそらくクロロフィル合成に関与する) をターゲットにするものが偶然に含まれるのではないか」。この仮説の検証に以下のような研究方法を立案・実施する。

①Y-sat の dsRNA をまねるために inverted-repeat (IR) construct を導入した形質転換タバコを作成する (Y-sat-IR)。②Y-sat-IR を材料に、トランスクリプトーム解析とプロテオーム解析を行う。③2の結果から転写量が減少したものの中で、特にクロロフィル合成に関与する遺伝子を選抜し、Y-sat の塩基配列と Blast search によって比較する。その結果、Mg プロトポルフィリンキレートゼン (ChlI) 遺伝子に対して complementary になる 22 塩基の連続した配列 (SYR) を Y-sat に見出した。④ChlI mRNA が Y-sat 感染で切断されるか確認するために 5' RACE 実験を行い、切断箇所を特定する。⑤センサー実験によって SYR が特異的に切断されることを証明する。すなわち、GFP 遺伝子の 3' end に SYR を付加し、植物発現プラスミドにクローニングする。アグロバクテリウムを介してこの GFP を Y-sat 感染タバコで発現させて、GFP の蛍光の消失を観察する。⑥Y-sat 感染葉から siRNA を抽出し、deep sequencing によって siRNA profiling を行う。これによって SYR から siRNA が生産されることを証明する。

4. 研究成果

クロバ葉脈黄化ウイルス (C1YVV) とキュウリモザイクウイルス (CMV) について以下の成果が得られた。

(1)HC-Pro の PTGS 抑制能が C1YVV による病徴発現に必要であることを、①活性の低下した変異 HC-Pro を持つ C1YVV に他のウイルスの PTGS 抑制遺伝子を付加することでウイルス毒性の低下が相補できることを示すなどして証明した。②一方、マメ科植物、エンドウのえそ病徴発現には半優性の対立遺伝子 (*Cyn1*) とサリチル酸経路の活性化が必要であることを明らかにし、この活性化に HC-Pro の PTGS 抑制能が関与していることも示した。③また宿主側の因子 *Cyn1* を特定する為に、モデル植物のタルウマゴヤシのウイルス感染に対する反応を調べてきた。宿主因子の解析は当初の計画より遅れていたが、今回エソ反応とモザイク反応を起こすエコタイプを選抜することが出来たので、これらを用いてエソ誘導における宿主側の遺伝的背景を解析した。その結果、リンケージグループ 3 にえそを起こす因子をマッピングされた。この遺伝子座は、エンドウでえそを起こす因子がマッピングされた *Cyn 1* の遺伝子座と高いシntenニーを示したので、今後この領域の精

密マッピングによって因子の単離が出来ると思われる。

(2)当初、C1YVV HC-Pro とタバコのカルモジュリン様タンパク rgs-CaM の PTGS 抑制能の分子機構を解明することを目的に解析を始めた。その中で、ショウジョウバエ S2 培養細胞での解析で、C1YVV の HC-Pro は PTGS を抑制しなかったものの導入した外来 (例えばルシフェラーゼ) 遺伝子の発現を促進することを新たに見出した。一方、rgs-CaM についてタバコの中で PTGS 抑制能ではない予想外の機能を持つ可能性を発見した。それが本研究の趣旨にも添うものであったことから、計画を変更して解析を進め以下のような新たな機能を持つことを明らかにした。

まず、大腸菌内で発現して精製した rgs-CaM とウイルス PTGS 抑制遺伝子を用いた *in vitro* 表面プラズモンレゾナンス解析により rgs-CaM は HC-Pro だけでなく複数の PTGS 抑制遺伝子と親和性を有していることを明らかにした。免疫沈降および *in situ* 近接接合解析 (PLA) 法により、実際にタバコ細胞内で結合していることを示した。では、なぜ rgs-CaM は多様なウイルス PTGS 抑制遺伝子に結合できるのか? 用いたウイルス PTGS 抑制遺伝子の共通の特徴として 2 本鎖短鎖 RNA (siRNA) に結合する。そこで、rgs-CaM はこの siRNA 結合領域に親和性を持つことにより PTGS 抑制遺伝子に結合しているのではないかと仮説を立て解析した。その結果、ヒト免疫不全ウイルスの PTGS 抑制遺伝子 Tat 由来の siRNA 結合ペプチドに rgs-CaM が結合する等の証拠を得るなどして、仮説通り rgs-CaM は自身の負の電荷を帯びた CaM 結合領域が正の電荷を帯びた siRNA 結合領域に親和性を持つことにより複数のウイルス PTGS 抑制遺伝子に結合していることが示唆された。

次に rgs-CaM が結合した PTGS 抑制遺伝子にどのような影響を与えているのか検証した。rgs-CaM を過剰発現およびノックダウンした形質転換タバコを作製し、それらの中で PTGS 抑制遺伝子をアグロインフィルトレーションで一過発現して、それらのタンパク及び RNA レベルでの発現について解析した結果、rgs-CaM はウイルス PTGS 抑制遺伝子の翻訳を阻害するかタンパクを不安定化することによりその発現を阻害していることが明らかになった。その後、宿主のタンパク分解系の阻害剤等を用いた解析で、少なくとも rgs-CaM と CMV 2b はユビキチン 26S プロテアソーム系で分解されていることが示唆されたことから、rgs-CaM はウイルス PTGS 抑制遺伝子を自身と共に分解に誘導している可能性が考えられた。

以上の結果から、本研究でウイルスの PTGS 抑制遺伝子に対する宿主側の対抗手段とな

っている未知の防御機構を見出し、ウイルスに対する植物の防御機構に関する新たなモデルを提唱した。その中で rgs-CaM は正に帯電する 2 本鎖 RNA/siRNA 結合領域に親和性を持つことで複数のウイルス PTGS 抑制タンパクに結合する。そして、結合したウイルス PTGS 抑制タンパクを不安定化することによりその PTGS 抑制能を阻害して結果としてウイルスに対する PTGS による基礎防御を強化してウイルス防御に貢献していることが示唆された。ウイルスの PTGS 抑制遺伝子に対して宿主側も対抗手段を備えていたことを新たに見出したことになり、重要な発見である。

(3) ウイルスの PTGS 抑制の活性を測定・比較するためにプロトプラストを使用したアッセイ系を構築した。プロトプラストに CMV の 2b 遺伝子とサテライト RNA (satRNA) を同時導入し、2b の PTGS 抑制活性を測定したところ、弱毒 CMV の 2b の PTGS 抑制能力に対して、サテライト RNA のプラス鎖、マイナス鎖ともに阻害的に作用することを観察した。また、2b と結合する宿主因子を酵母の two-hybrid 法によってスクリーニングした結果、カタラーゼが 2b タンパク質と結合することが判明した。プロトプラストに 2b とカタラーゼを同時に発現させたところ 2b の PTGS 抑制活性が低下し、カタラーゼも 2b に阻害的に作用することがわかった。

CMV Y-sat によって CMV 感染タバコの緑色モザイクが鮮黄色モザイクに変化することが 1981 年に発見されて以来、世界中の研究室でそのメカニズム解明に挑戦してきた。タンパク質をコードしない、およそ 300~400 塩基の RNA が病徴を著しく変化させることは、ウイルスの病徴誘導メカニズム解明のモデルケースになると考えられたからである。しかし、いずれの研究も Y-sat のターゲットが同定できず、成功には至らなかった。2004 年に我々が宿主の PTGS がこの黄化誘導に関与することをつきとめたことによりターゲットになる宿主因子の探索への道が拓けた。CMV のサテライト RNA (sat-RNA) は宿主サイレンシングを受けて siRNA を大量に生成する。Y-satRNA がタバコを黄化させる現象については、まず、「Y-satRNA の siRNA の中に、偶然に宿主の (おそらくクロロフィル合成に関与する) 遺伝子の mRNA 分解を引き起こすものがある」という仮説を考えた。これを検証するために、Y-sat の dsRNA を発現する形質転換タバコを作出したところ、Y-sat 感染タバコに類似した黄化現象を確認できた。これより、Y-sat dsRNA が PTGS を誘導したものと考えられる。次に、この形質転換体から RNA を抽出し、トランスクリプトーム解析をした結果、クロロフィル合成系に関与する遺伝子の mRNA が多数減少していた。

この中で Y-sat と 22 塩基の complementary 配列 (SYR) を有する Mg プロトポルフィリン キレターゼ (ChI) 遺伝子を特定することができた。また、Y-sat 感染組織から small RNA を抽出し、deep sequencing によって塩基配列を確認したところ、SYR に結合する siRNA が多量に合成されていることが判明した。Y-sat のターゲットと考えられる ChI 遺伝子の mRNA が宿主サイレンシングにより切断されるか確かめるために、5' RACE 法によって切断箇所を特定を試みた。その結果、予想される塩基一カ所で切断されることが判明し、ChI mRNA が破壊されることがこのタンパク質の減少につながることをつきとめた。すなわち Y-sat は ChI mRNA を消滅させ、クロロフィル合成を阻害するものと考えられ、PTGS を利用してタバコでの黄化現象を引き起こしているものと結論した。本研究は、ウイルスやサブウイルスエージェントによる病徴誘導に関して分子レベルで解明することに成功した世界初の成果である (PLoS Pathogens 2011 年 5 月号と Nature Reviews で特筆される予定である)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 35 件)

- ① Shimura, H., Pantaleo, V., Ishihara, T., Myojo, N., Inaba, J., Sueda, K., Burguán, J. and Masuta, C. (2011). A viral satellite RNA induces yellow symptoms on tobacco by targeting a gene involved in chlorophyll biosynthesis using the RNA silencing machinery. *PLoS Pathogens* 査読有, in press.
- ② Kim, B. M., Inaba, J. and Masuta, C. (2011). Virus induced gene silencing in *Antirrhinum majus* using the Cucumber mosaic virus vector: Functional analysis of the AINTEGUMENTA (Am-ANT) gene of *A. majus*. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 査読有 52, in press.
- ③ Fukuzawa, N., Itchoda, N., Ishihara, T., Goto, K., Masuta, C. and Matsumura, T. (2010). HC-Pro, a potyvirus RNA silencing suppressor, cancels cycling of Cucumber mosaic virus in *Nicotiana benthamiana* plants. *Virus Genes* 査読有 40, 440-446.
- ④ Sueda, K., Shimura, H., Meguro, A., Uchida T., Inaba J., and Masuta, C. (2010). The C-terminal residues of the 2b protein of Cucumber mosaic virus are important for efficient expression in *Escherichia coli* and DNA binding. *FEBS Letters* 査読有 584, 945-950.
- ⑤ Asaoka, R., Shimura, H., Arai, M. and

Masuta, C. (2010). A progeny virus from a cucumovirus pseudorecombinant evolved to gain the ability to accumulate its RNA silencing suppressor leading to systemic infection in tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 査読有 23, 32-339.

⑥ Kim, B., Suehiro, N., Natsuaki, T., Inukai, T. and Masuta, C. (2010). The P3 Protein of turnip mosaic virus can alone induce HR-like cell death in *Arabidopsis thaliana* carrying TuNI. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 査読有 40, 144-152.

⑦ Nakahara, K. S., Shimada, R., Choi, H. S., Yamamoto, H., Jun, S. and Uyeda, I. (2010). Involvement of the P1 cistron in overcoming eIF4E-mediated recessive resistance against Clover yellow vein virus in pea. *Molecular Plant Microbe Interactions* 査読有 23, 1460-1469.

⑧ Lee, Y. S., Pressman, S., Andress, A. P., Kim, K., White, J. L., Cassidy, J. J., Lil, X., Lubell, K., Lim, D. H., Cho, I. S., Nakahara, K., Preall, J. B., Bellare, P., Sontheimer, E. J. and Carthew, R. W. (2009) Silencing by small RNAs is linked to endosomal trafficking, *Nature Cell Biology*, 査読有, 11, 2009, 1150 - 1156

⑨ Andrade, M., Abe, Y., Nakahara, K. S. and Uyeda, I. (2009). Eukaryotic initiation factor 4E controls cyv 2 resistance in pea. *J Gen Plant Pathol.* 75, 241-249

⑩ Atsumi, G., Kagaya, U., Kitazawa, H., Nakahara, K. S. and Uyeda, I. (2009) Activation of the salicylic acid signaling pathway enhances Clover yellow vein virus virulence in susceptible pea cultivars. *Molecular Plant Microbe Interactions* 22, 166-175.

⑪ Shimura, H., Fukagawa, T., Meguro, A., Yamada, H., Oh-hira, M., Sano, S. and Masuta, C. (2008). A strategy for screening an inhibitor of viral silencing suppressors, which attenuates symptom development of plant viruses. *FEBS Letters* 査読有 582, 4047-4052.

⑫ Nagamatsu, A., Masuta, C., Matsuura, H., Kitamura, K., Abe, J. and Kanazawa, A. (2008). Down-regulation of flavonoid 3'-hydroxylase gene expression by virus-induced gene silencing in soybean reveals the presence of a threshold mRNA level associated with pigmentation in pubescence. *Journal of Plant Physiology* 査読有 5, 778-90.

⑬ Shimura, H., Kogure, Y., Goto, K. and

Masuta, C. (2008). Degree of RNA silencing and ability of a viral suppressor vary depending on the cell species in a protoplast system. *Journal of General Plant Pathology* 査読有 74, 326-330.

⑭ Yambao, M.L.M., Yagihashi, H., Sekiguchi, H., Sekiguchi, T., Sasaki, T., Sato, M., Atsumi, G., Tacahashi, Y., Nakahara, K. S. and Uyeda, I. (2008). Point mutations in helper component protease of clover yellow vein virus are associated with the attenuation of RNA-silencing suppression activity and symptom expression in broad bean. *Archives Virology* 査読有 153, 105-115.

⑮ Nagamatsu, A., Masuta, C., Senda, M., Matsuura, H., Kasai, A., Hong, J.-S., Kitamura, K., Abe, J. and Kanazawa, A. (2007). A functional analysis of soybean genes involved in flavonoid biosynthesis by virus-induced gene silencing. *Plant Biotechnology Journal* 査読有 5, 778-790.

⑯ Goto, K., Kobori, T., Kosaka, Y., Natsuaki, T. and Masuta, C. (2007). Characterization of silencing suppressor 2b of Cucumber mosaic virus based on examination of its small RNA-binding abilities. *査読有 Plant Cell Physiology* 48, 1050-1060.

⑰ Ravelo, G., Kagaya, U., Inukai, T., Sato, M., and Uyeda, I. (2007). Genetic analysis of lethal tip necrosis induced by Clover yellow vein virus infection in pea. *J. Gen. Plant Pathol.* 査読有 73, 59-65.

⑱ Andrade, M., Sato, M., and Uyeda, I. (2007). Two resistance modes to Clover yellow vein virus in pea characterized by a green fluorescent protein-tagged virus. *Phytopathology* 査読有 97, 544-550.

⑲ Matsuo, K., Hong, J.-S., Tabayashi, N., Ito, A., Masuta, C. and Matsumura, T. (2007). Development of Cucumber mosaic virus as a vector modifiable for different host species to produce therapeutic proteins. *Planta* 査読有 225, 277-286.

⑳ Otagaki, S., Arai, M., Takahashi, A., Goto, K., Hong, J.-S., Masuta, C. and Kanazawa, A. (2006). Rapid induction of transcriptional and post-transcriptional gene silencing using a novel Cucumber mosaic virus vector. *Plant Biotechnology* 査読有 23, 259-265.

[学会発表] (計 72 件)

①志村 華子、増田 税 他。キュウリモザイクウイルス Y サテライト RNA が誘導する黄化症状の分子メカニズムの解析。平成 23

年度日本植物病理学会大会 2011 年 3 月 27 日 府中市、東京農工大学

② Nakahara, K., 他。Counterdefense against Viral RNAi Suppressors in Tobacco. *Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology* 2011 年 3 月 22-25 日 Monterey, California, USA

③ Fujiwara, A., Masuta, C. 他。Screening of antiviral agents to inhibit RNA silencing suppressors of plant and animal viruses. *Antivirals Congress* 2010 年 11 月 7 日 Amsterdam, Nederland

④ Yamada, S., Nakahara, K., Uyeda, I. 他。Effect of rgs-CaM overexpression on PVY accumulation in transgenic tobacco plants. *Keystone symposia (RNA silencing mechanisms in plants)* 2010 年 2 月 21-26 日 Santa Fe, New Mexico, USA

⑤ 稲場 純一、増田 税 他。Cucumber mosaic virus vector has the ability to induce inheritable transcriptional gene silencing of endogenes in petunia. *The 1st Japan-Korea joint symposium* 2009 年 10 月 29-31 日 Jeju, Korea

⑥ Atsumi, G., Nakahara, K., Uyeda, I. 他。Two separated regions in virus genome contribute to high virulence expression of Clover yellow vein virus 90-1 Br-2 isolate in peas. *The 1st Japan-Korea joint symposium* 2009 年 10 月 28-31 日 Jeju, Korea

⑦ Shimura, H., Masuta, C. 他。Comparison of the 2b proteins from two isolates of Tomato aspermy virus in silencing suppressor activity and viral systemic movement. *International Congress of Virology, The INTERNATIONAL UNION OF MICROBIOLOGICAL SOCIETIES* 2009 年 8 月 10-15 日 Istanbul, ISTANBUL CONVENTION AND EXHIBITION CENTRE

⑧ 志村 華子、増田 税 他。キュウリモザイクウイルスサテライト RNA が植物の RNA サイレンシングへ及ぼす影響の解析。平成 21 年度日本植物病理学会大会 2009 年 3 月 26-28 日 山形大学小白川キャンパス

⑨ 後藤 一法、増田 税 他。サブグループ I と II のキュウリモザイクウイルスの 2b タンパク質のサイレンシング抑制活性の比較。平成 21 年度日本植物病理学会大会 2009 年 3 月 26-28 日 山形大学小白川キャンパス

⑩ 志村 華子、増田 税 他。キュウリモザイクウイルスサテライト RNA が植物の RNA サイレンシングへ及ぼす影響の解析。平成 21 年度日本植物病理学会大会 2009 年 3 月 26-28 日 山形市、山形大学

⑪ 後藤 一法、増田 税 他。サブグループ I と II のキュウリモザイクウイルスの 2b

タンパク質のサイレンシング抑制活性の比較。平成 21 年度日本植物病理学会大会 2009 年 3 月 26-28 日 山形市、山形大学

⑫厚見 剛、中原 健二、上田 一郎 他。エンドウ PI 226564 系統においてクローバ葉脈黄化ウイルスの強毒性を決定するウイルス因子の探索。平成 21 年度日本植物病理学会大会 2009 年 3 月 26-28 日 山形市、山形大学

⑬中原 健二、上田 一郎 他。クローバ葉脈黄化ウイルスは P1 に点変異を生じることにより翻訳開始因子をコードする cyv-2 遺伝子によるエンドウ劣性抵抗性を打破する。平成 21 年度日本植物病理学会大会 2009 年 3 月 26-28 日 山形市、山形大学

⑭永松 敦、増田 税 他。RNA サイレncing は植物組織の着色に必要なフラボノイド合成系遺伝子の mRNA 量の閾値を明らかにする。日本分子生物学会第 31 回年会 2008 年 12 月 12 日 神戸市、神戸ポートアイランド

⑮山田 翔太、中原 健二、上田 一郎 他。クローバ葉脈黄化ウイルスの感染で誘導されるエンドウ遺伝子の発現。平成 20 年度日本植物病理学会大会北海道部会 2008 年 10 月 17 日 札幌市、北海道農業研究センター

⑯山田 翔太、中原 健二、上田 一郎 他。クローバ葉脈黄化ウイルスの病原性に関わる宿主タンパク質の同定。日本ウイルス学会北海道支部 第 42 回夏期シンポジウム 2008 年 7 月 26-27 日 ニセコ町、ホテルニセコいこいの村

⑰厚見 剛、中原 健二、上田 一郎 他。エンドウにおけるクローバ葉脈黄化ウイルスの病原性には RNA silencing suppressor 活性が関与する。第 55 回日本ウイルス学会 2007 年 10 月 22 日 札幌、札幌コンベンションセンター

⑱稲場 純一、増田 税 他。キュウリモザイクウイルスベクターを用いたペチュニアの内在性遺伝子プロモーターへのメチル化誘導。平成 19 年度日本植物病理学会北海道部会 2007 年 10 月 12 日 札幌、北方圏センター

⑲小暮 勇樹、増田 税 他。キュウリモザイクウイルスされライト RNA は宿主 RNA サイレncing を促進する。平成 19 年度日本植物病理学会北海道部会 2007 年 10 月 12 日 札幌、北方圏センター

⑳中原 健二、上田 一郎 他。RNA サイレncing 抑制遺伝子による外来遺伝子の発現促進について。第 41 回日本ウイルス学会北海道支部夏期シンポジウム 2007 年 8 月 23-24 日 小樽、かんの宿朝里荘

㉑Atsumi, G., Nakahara, S., Uyeda, I 他。Clover yellow vein virus expresses

virulence by salicylic acid-mediated pathway in pea. XIII International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions 2007 年 7 月 25 日 イタリア、ソレント、ホテルヒルトン

㉒志村 華子、増田 税 他。プロトプラストを使用したウイルスのサイレンシングサブレッサーの機能解析。平成 19 年度日本植物病理学会大会 2007 年 3 月 28-30 日 宇都宮、宇都宮大学農学部

㉓厚見 剛、中原 健二、上田 一郎 他。エンドウにおいてクローバ葉脈黄化ウイルスが誘導する全身性の細胞死と RNA silencing suppressor 活性の関係。平成 19 年度日本植物病理学会大会 2007 年 3 月 28-30 日 宇都宮、宇都宮大学農学部

[その他]

ホームページ

http://www.agr.hokudai.ac.jp/ikushu/byougen/saito/purojekuto_yan_jiu.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 一郎 (UYEDA ICHIRO)

北海道大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：10113523

(2) 研究分担者

増田 税 (MASUTA CHIKARA)

北海道大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：60251854

中原 健二 (NAKAHARA KENJI)

北海道大学・大学院農学研究院・助教

研究者番号：90315606

(3) 連携研究者

なし