

「植物の機能と制御」

平成14年度採択研究代表者

石川 雅之

(北海道大学院農学研究科 助教授)

### 「タバコモザイクウイルスの増殖機構」

#### 1. 研究実施の概要

ウイルスの増殖機構を解明し、ウイルス増殖の人為的コントロールあるいは物質生産や遺伝子導入手段などとしてのウイルスの有効利用の基礎を構築するためには、ウイルスにコードされた因子のみならず宿主因子も含めた機能解析が必要である。しかし、真核生物を宿主とするウイルスの増殖に関与する宿主因子の解明は遅れている。本研究は、試験管内タバコモザイクウイルス (TMV) RNA 翻訳-複製系を用いて、TMV RNA 複製およびそれに密接に連携して起こると考えられる細胞間移行と RNA サイレンシングからの回避に関与する宿主因子を同定し、TMV の増殖機構を分子レベルで理解することを目的とする。

本年度は、以下の3点を実施した。(1) TMV RNA の複製に関与する宿主因子を同定し、複製機構を解明するため、試験管内 TMV-RNA 複製系の分画・再構成を行う。その第一歩として、TMV RNA の複製過程のうち細胞質で起きる事象と膜表面で起きる事象の分離を試みる。本年度は複製複合体を膜につなぎ止める役割を果たす宿主膜蛋白質 TOM1 の発現を RNA サイレンシングで抑制したタバコ培養細胞を作製した。TOM1 が不在の細胞抽出液中で TMV RNA を翻訳すると、膜表面に複製蛋白質や鋳型 RNA がリクルートされる直前の状態で複製過程が停止し、ここに野生型タバコ培養細胞の抽出液を加えれば反応が再開すると予想される。この実験系が成立したならば、TOM1 が関与する段階の前で停止した複製反応中間体の同定ができると考えられる。(2) TMV 複製複合体の構成因子や構造の解明に向けて、複合体を大量に精製する必要がある。この基盤として、ステロイドホルモン投与により TMV の感染が誘導できるタバコ培養細胞を樹立した。(3) TMV に同調感染したタバコ培養細胞由来プロトプラストを破碎し、細胞分画して移行蛋白質と複製蛋白質の挙動を調査した。今後、移行蛋白質と複製蛋白質が共局在した画分に着目し、両者が架橋剤でクロスリンクされるかなどを問い、複製と細胞間移行の連携機構の解明につなげる。

#### 2. 研究実施体制

石川グループ

- ① 研究分担グループ長：石川 雅之 (北海道大学 大学院農学研究科、助教授)
- ② 研究項目：TMV の複製蛋白質の翻訳から複製複合体の形成に至る分子機構の解明、

および複製複合体の構成要素の同定と各因子の機能解明

飯グループ

- ① 研究分担グループ長：飯 哲夫（京都大学 大学院理学研究科、助教授）
- ② 研究項目：RNA 複製と細胞間移行の連携機構の解明、および TMV 複製蛋白質によるRNAサイレンシング抑制機構の解明

森グループ

- ① 研究分担グループ長：森 正之（石川県農業短期大学 農業資源研究所、助教授）
- ② 研究項目：タバコ培養細胞における T-DNA カセットからの TMV 感染誘導系の構築、および TMV の増殖に関わる宿主因子の機能解明