

キクわい化ウイルスの人工合成システム

SATテクノロジー・ショーケース2013

■ はじめに

ウイルスは環状1本鎖RNAのみからなる最小の植物病原体である。ウイルスは植物の細胞内において、自律的に複製し、全身に感染する。ウイルスに感染したジャガイモやトマト、キク、カンキツなどは激しい病徴を示し、甚大な被害を及ぼす。キクわい化ウイルス(Chrysanthemum stunt viroid; CSVd)はキクの難防除病原体の1つであり、CSVdによって引き起こされるわい化病は、キクの最重要病害である。ウイルスは環状1本鎖RNAのみから構成されていることから、人為的に合成する系を構築することができれば、RNAの塩基配列の一部の置き換えや除去などを行うことができ、ウイルスの分子生物学的な研究を進めることができる。

そこで、我々はCSVdの人工合成の系を構築し、その系で完成したCSVd RNAが実際に植物体に感染し、複製することを接種試験によって確認した。

■ 活動内容

1. ウィルスRNAの抽出

CSVdに感染したキクからRNA抽出キットを用いて、CSVdを含むRNAを抽出した。電気泳動によってCSVdのRNAを含む画分を取り出した。

2. ウィルスRNAのcDNA化とプラスミドへの導入

CSVdのRNAの溶液から逆転写反応によってCSVdのcDNA配列を合成した。次に、PCR反応によってT7 RNAポリメラーゼ(RNA合成酵素)でRNAを合成できるようにT7プロモーターの配列を5'側に付加したCSVdの全長DNAを作製した。このDNAをプラスミドに導入して、大腸菌で複製させた。

3. ウィルスRNAの合成

T7プロモーター配列付加されたCSVdの配列をもつプラスミドを鋳型にして、T7 RNAポリメラーゼによってCSVd RNAを合成した。

4. ウィルスRNAの接種と感染の確認

合成したCSVd RNAをインギクに接種すると、感染植物から抽出・精製した天然のCSVdと同様に、CSVdの感染が確認できた。一方、鋳型として用いたDNAやその配列をもつプラスミドには感染性は認められなかった。合成したCSVd RNAを宿主植物に接種すると、インギク、トマト、ア

ゲラタムからは4週間後に、シュンギクからは8週間後にCSVdが検出された。

以上のことから、本方法によって合成されたCSVd RNAはCSVd宿主植物に感染し、複製能を持ち、接種試験に利用できることを初めて示した。今後、任意のRNAの塩基配列の一部の置き換えや除去・付加などを行うことができ、ウイルスの分子生物学的な研究を進めることができる。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

現在のところ本研究結果に関係する特許申請はしていない。

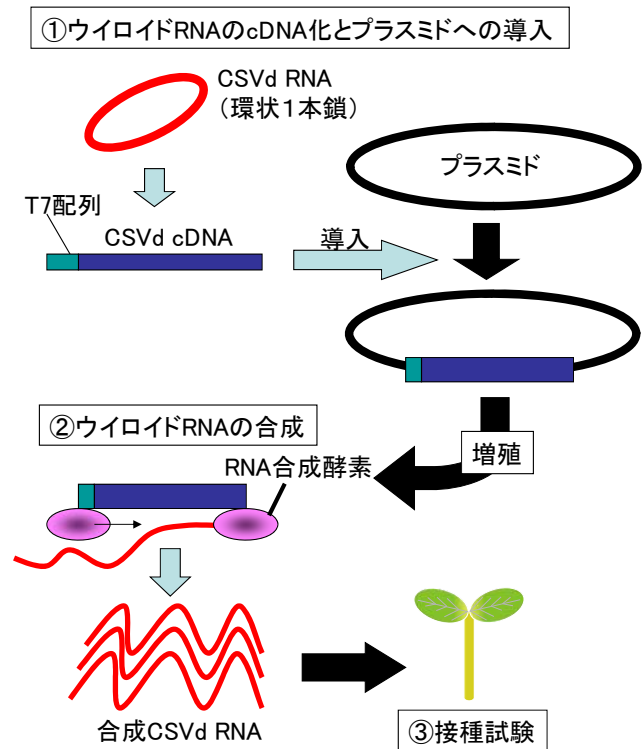


図 キクわい化ウイルスの人工合成システム

代表発表者 松下 陽介 (まつした ようすけ)
 所属 (独)農業・食品産業技術総合研究機構
 花き研究所 花き研究領域
 問合せ先 〒305-8519 つくば市藤本 2-1
 TEL:029-838-6801 FAX:029-838-6841

■キーワード: (1)ウイルス
 (2)RNA
 (3)人工合成