

ダイアンソウウイルスの RNA 複製機構
(13306005)

平成 13 年度—平成 15 年度科学研究費補助金（基盤研究 (A) (2)）研究成果報告書

平成 16 年 3 月

京 都 大 学 図 書



1040940334

附 属 図 書 館

研究代表者

奥野哲郎

別紙様式 14

(研究費等交付金交付決定書)

ダイアンソウウイルスの RNA 複製機構

(13306005)

平成 13 年度—平成 15 年度科学研究費補助金 (基盤研究 (A) (2)) 研究成果報告書

平成 16 年 3 月

研究代表者

奥野哲郎

(京都大学農学研究科)

研究組織

研究代表者 奥野哲郎 京都大学農学研究科教授

研究分担者 海道真典 京都大学農学研究科助手

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 13 年度	24100000	7230000	31330000
平成 14 年度	5400000	1620000	7020000
平成 15 年度	5400000	1620000	7020000
総計	34900000	10470000	45370000

研究発表

(1) 学会誌等 (発表者名、テーマ名、学会誌名、巻号、年月日)

主要論文

Mizumoto H, Tatsuta M, Kaido M, Mise K, Okuno T. Cap-independent translational enhancement by the 3' untranslated region of *Red clover necrotic mosaic virus* RNA1. *J. Virol.*, 77(22):12113-21, 2003 年 11 月

Mizumoto H, Hikichi Y, Okuno T. The 3'-untranslated region of RNA1 as a primary determinant of temperature sensitivity of *Red clover necrotic mosaic virus* Canadian strain. *Virology*, 293(2):320-327, 2002 年 2 月

Tatsuta M, Mizumoto H, Kaido M, Mise K, Okuno T. The RNA stem-loop structure on RNA2 that is required for coat protein expression through RNA-mediated trans-activation is essential for replication of *Red clover necrotic mosaic virus* RNA2. *J. Virol.* (submitted) 2004 年

関連論文

Damayanti TA, Tsukaguchi S, Mise K, Okuno T. cis-acting elements required for efficient packaging of brome mosaic virus RNA3 in barley protoplasts. *J. Virol.*, 77(18):9979-86,

2003 年 9 月

Fujisaki K, Kaido M, Mise K, Okuno T. Use of Spring beauty latent virus to identify compatible interactions between bromovirus components required for virus infection. J. Gen. Virol., 84(6):1367-75, 2003 年 6 月

Sasaki N, Arimoto M, Nagano H, Mori M, Kaido M, Mise K, Okuno T. The movement protein gene is involved in the virus-specific requirement of the coat protein in cell-to-cell movement of bromoviruses. Arch. Virol., 48(4):803-12, 2003 年 4 月

Takeda A, Sugiyama K, Nagano H, Mori M, Kaido M, Mise K, Tsuda S, Okuno T. Identification of a novel RNA silencing suppressor, NSs protein of Tomato spotted wilt virus. FEBS Lett., 532(1-2):75-9, 2002 年 12 月

Dohi K, Mise K, Furusawa I, Okuno T. RNA-dependent RNA polymerase complex of Brome mosaic virus: analysis of the molecular structure with monoclonal antibodies. J. Gen. Virol., 83(11):2879-90, 2002 年 11 月

Damayanti TA, Nagano H, Mise K, Furusawa I, Okuno T. Positional effect of deletions on viability, especially on encapsidation, of Brome mosaic virus D-RNA in barley protoplasts. Virology, 293(2):314-9, 2002 年 2 月

Nagano, H., Mise, K., Furusawa, I., and Okuno, T. Conversion in the requirement of coat protein in cell-to-cell movement mediated by the cucumber mosaic virus movement protein. J. Virol. 75(17): 8045-8053, 2001 年 9 月.

Dohi, K., Mori, M., Furusawa, I., Mise, K., and Okuno, T. *Brome mosaic virus* replicase proteins localize with the movement protein at infection-specific cytoplasmic inclusions in infected barley leaf cells. Arch. Virol., 146: 1607-1615, 2001 年 8 月.

(2) 口頭発表 (発表者名、テーマ名、学会等名、年月日)

(国内学会)

水本祐之・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、*Red clover necrotic mosaic virus* RNA2 の翻訳はウイルスの複製酵素成分によって活性化される. 平成 16 年度日本植物病理学会大会 (福岡) 平成 16 年 3 月

立田昌宏・水本祐之・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、*Red clover necrotic mosaic virus* の RNA2 の遺伝子コード領域内に存在する複製に必要なシス配列の解析. 平成 16 年度日本植物病理学会大会 (福岡) 平成 16 年 3 月

佃美紗都・竹田篤史・水本祐之・カリスマコロマ・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、*Red clover necrotic mosaic virus* の RNA サイレンシング抑制遺伝子の探索、平成 16 年度日本植物病理学会大会 (福岡) 平成 16 年 3 月

杉山量彦・海道真典・高野義孝・三瀬和之・奥野哲郎 Virus-Induced Gene Silencing を利用した病原体感染に関わる宿主遺伝子の探索. 平成 15 年度日本植物病理学会関西西部会 (奈良)、平成 15 年 10 月

佃 美紗都、竹田 篤史、水本 裕之、カリスマ ピンテル コロマ、海道真典、三瀬 和之、奥野 哲郎、 *Red clover necrotic mosaic virus* の RNA サイレンシング抑制遺伝子 日本ウイルス学会 (京都)、平成 15 年 10 月

水本祐之・立田昌宏・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、 *Red clover necrotic mosaic virus* RNA2 の Cap 非依存的翻訳機構. 平成 15 年度日本植物病理学会大会 (東京)、平成 15 年 3 月

立田昌宏・水本祐之・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、 *Red clover necrotic mosaic virus* の外被タンパク質翻訳においてトランスに作用する RNA 配列の解析. 平成 15 年度日本植物病理学会大会 (東京)、平成 15 年 3 月

水本祐之・立田昌宏・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、 *Red clover necrotic mosaic virus* RNA1 の 3'非翻訳領域は Cap 非依存的翻訳を活性化する. 平成 15 年度日本植物病理学会大会 (東京)、平成 15 年 3 月

水本祐之・立田昌宏・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、Cap 構造と poly(A)に依存しない *Red clover necrotic mosaic virus* の翻訳機構. 第 50 回日本ウイルス学会 (札幌)、平成 14 年 11 月

杉山量彦・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、VIGS による宿主植物遺伝子の発現抑制はウイルス感染による病徴発現を遅延する. 平成 14 年度日本植物病理学会関西西部会 (三重)、平成 14 年 9 月

水本祐之・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、*Red clover necrotic mosaic virus* カナダ株 (RCNMV-Can) RNA1 の 3'末端に存在する stem-loop 構造は RCNMV-Can の温度感受性に関与する. 平成 14 年度日本植物病理学会大会 (大阪)、平成 14 年 4 月

立田昌宏・水本祐之・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、*Red clover necrotic mosaic virus* RNA2 の複製に必要なシス配列の解析. 平成 14 年度日本植物病理学会大会 (大阪)、平成 14 年 4 月

竹田篤史・三瀬和之・海道真典・奥野哲郎、*Brome mosaic virus* (BMV) は細胞間移行に粒子化を必要としない. 平成 14 年度日本植物病理学会大会 (大阪)、平成 14 年 4 月

奥西佳・松本耕平・土肥浩二・三瀬和之・奥野哲郎、トマモウイルスの宿主特異性: PMMoV と ToMV の複製酵素遺伝子キメラウイルスの解析. 平成 13 年度日本植物病理学会関西西部会 (高知) 平成 13 年 10 月

Damayanti, T., A., Mise, K. and Okuno, T.、Analysis of nucleotide sequence and RNA tertiary structure required for BMV D-RNA packaging. 平成 13 年度日本植物病理学会関西西部会 (高知) 平成 13 年 10 月

中村和香子・佐々木信光・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、*Brome mosaic virus* の移行タンパク質の C 末端領域は細胞間移行における外被タンパク質要求因子に関与している. 平成 13 年度日本植物病理学会関西西部会 (高知) 平成 13 年 10 月

岩橋福松・藤崎恒喜・海道真典・三瀬和之・奥野哲郎、*Cassia yellow blotch virus* の遺伝子操作系の確立、平成13年度日本植物病理学会関西西部会（高知）平成13年10月。

浜田博幸・竹内繁治・木場章範・曳地康史・奥野哲郎、L³ 遺伝子抵抗性打破に関与するペックパーマイルドモトルウイルスの外被タンパク質アミノ酸残基のウイルス粒子安定性への影響、平成13年度日本植物病理学会関西西部会（高知）、平成13年10月

（国際学会）

Mizumoto, H., Tatsuta, M., Kaido, M., Mise, K. and Okuno, T. A potential mechanism of translational control of *Red clover necrotic mosaic virus* genomic RNAs. 22nd annual meeting of American Society for Virology. Davis, CA, USA July, 2003.

Tatsuta, M., Mizumoto, H., Kaido, M., Mise, K. and Okuno, T. Analysis of cis-acting elements required for the replication of *Red clover necrotic mosaic virus* RNA2. 22nd annual meeting of American Society for Virology. Davis, CA, USA July, 2003.

Damayanti, T. A., Kaido, M., Mise, K., and Okuno, T. Cis-acting sequences required for efficient packaging of *Brome mosaic virus* RNA3 *in vivo*. 12th International Congress of Virology (Paris, France), July 27—August 1, 2002.

Mizumoto, H., Kaido, M., Mise, K., and Okuno, T. Cap-independent and temperature sensitive translational enhancement by the 5'- and the 3'-UTR of *Red clover necrotic mosaic virus* Canadian strain RNA1. 12th International Congress of Virology. (Paris, France), July 27—August 1, 2002.

Matsumoto, K., Takayama, Y., Hikichi, Y., Mise, K., and Okuno, T. Interaction of movement protein and coat protein controls long-distance movement of tobamoviruses in a host specific manner. 10th International Congress of Molecular Plant-Microbe Interactions. Madison, Wisconsin, USA. July, 2001.

Okinaka, Y., Mise, K., Suzuki, E., Okuno, T., and Furusawa, I. The C-terminus of Brome mosaic virus coat protein controls viral cell-to-cell and long-distance movement. 10th International Congress of Molecular Plant-Microbe Interactions. Madison, Wisconsin, USA. July, 2001.

Sasaki, N., Arimoto, M., Nagano, H., Mise, K., and Okuno, T. The movement protein genes of Bromovirus determine the involvement of the coat protein genes in initial cell-to-cell movement in plants. 10th International Congress of Molecular Plant-Microbe Interactions. Madison, Wisconsin, USA. July, 2001.

（シンポジウム等）

Okuno, T. Plant and Virus: Invasion and Defense. Sino-Japanese Symposium on China Western Region Development. Yangling, China, Sept. 10-18, 2001.

奥野哲郎 植物ウイルス研究の現状と将来展望-RNA ウイルスの遺伝子発現戦略と宿主装置-日本植物病理学会平成 14 年度感染生理談話会（鳥取）、平成 14 年 8 月

(3) 出版物 （著者名、書名、出版社名、年月日）

奥野哲郎、バイオサイエンスの新戦略：植物ウイルスとバイオサイエンス 102-115. 丸善、2004 年 3 月

杉山量彦・海道真典・奥野哲郎、植物ウイルスを利用したノックアウト植物、化学と生物 41 (4):183-188、2003 年 3 月

Nagano, H., Mise, K., Furusawa, I., and Okuno, T. Plant virus cell-to-cell movement mediated by the cucumber mosaic virus movement protein. Recent Res. Devel. Virol. 4: 99-105, 2002 年 6 月

研究成果による工業所有権の出願・取得状況

（工業所有権の名称、発明者名、権利者名、工業所有権の種類、番号、出願年月日、取得年月日等）

温度依存性翻訳制御ポリヌクレオチド、奥野哲郎・水本祐之・井戸隆雄、国立大学法人京都大学、特許願 2004-117384、平成 16 年 4 月 12 日出願

研究業績の概要

本研究は、豆科植物に重要病害をもたらす植物 RNA ウイルスである *Red clover necrotic mosaic virus* (RCNMV) の感染・増殖機構を明らかにすることを目的として行った。RCNMV は、ダイアンソウイルス属に含まれ、二文節の一本鎖プラスセンス RNA をゲノムとして持つ。RCNMV を含むダイアンソウイルスの複製酵素成分タンパク質には、他の多くの真核生物 RNA ウイルスにみられるヘリカーゼ様タンパク質の保存モチーフが存在しないなど、これまで多くの研究がなされてきたタバコモザイクウイルス (TMV)、キュウリモザイクウイルス (CMV)、ブロムモザイクウイルス (BMV) などと分類学上大きく異なる。また、RNA ウイルスの複製機構については多くの研究がなされてきたが、その分子機構についてはほとんど明らかにされていないのが現状である。ウイルスにとって最も重要なゲノム複製での情報不足が、ウイルス病防除法開発やウイルスを用いた応用研究を遅らせてきた大きな原因のひとつであると考えられる。

本研究では、RCNMV のゲノム構造、タンパク質翻訳機構、RNA 複製機構、遺伝子発現制御機構、抗植物ウイルス抵抗性機構に関して多くの知見を得ることができたので、以下の 5 つの章に分けて成果を報告する。

第一章は、RCNMV のゲノム構造、特に翻訳と RNA 複製において重要な役割を果たすゲノム RNA の末端構造とタンパク質翻訳機構について *Journal of Virology* に発表した論文を掲載する。第二章は、ゲノム RNA を構成する 2 種類の RNA1 と RNA2 の翻訳機構の違い、特にウイルスタンパク質の時間的発現制御について述べる。第三章は、RNA 2 の複製機構、特に複製に必要な RNA 因子について現在 *Journal of Virology* に投稿中の論文を掲載する。第四章は、植物のウイルス抵抗性機構の一つである RNA サイレンシングに対抗する RCNMV の RNA サイレンシング抑制機構について述べる。第五章は、RCNMV の RNA 複製における温度感受性因子について *Virology* に発表した論文を掲載する。また、本研究により得た成果をもとに出願した特許願を補足資料として掲載する。