

環境とバイオテクノロジー  
2020 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書
------------------

二宮 章洋

東京大学 大学院農学生命科学研究科  
助教

ウイルスゲノムを利用した糸状菌の二次代謝機能開発

## § 1. 研究成果の概要

昨年度に得たウイルス感染候補株について、逆転写 PCR (RT-PCR) によってウイルス感染の有無を確認した。昨年度はパーティクルガンを用いて 3 種の糸状菌にウイルス導入を試み、合計 124 株のウイルス感染候補株を得た。これらの候補株を液体培養し、菌体から二本鎖 RNA を抽出した上で、二本鎖 RNA を鋳型として RT-PCR をおこなった。その結果、124 株のうち少なくとも 1 株にはクライソウイルスが感染していることを示唆する結果を得た。しかしながら、感染が疑われる株を新たに寒天培地に植菌して、菌糸を用いて逆転写 PCR をおこなったところ、ウイルスは検出されなかった。この結果は、ウイルスが一度糸状菌に導入されたが、細胞分裂に伴い失われてしまったことを示唆する。今後は、ウイルスがレシピエント内で維持される可能性を高めるべく、よりレシピエントに近縁な糸状菌をドナーとして用いて感染実験を進める予定である。

また、昨年度に作製したウイルス遺伝子発現ベクター pPTRII\_VGE の改良をおこなった。pPTRII\_VGE は、プロモーター配列とターミネーター配列の間に終止コドンをもつ読み枠を 1 つしか含んでおらず、従って、3 通りの読み枠のうち 1 つの読み枠が使われた場合のみタンパク質合成が正しく終了する。そこで、新たに終止コドンを 2 つ加えることによって、どの読み枠が使われた場合にもタンパク質が正しく翻訳されるようにベクターを改良した (pPTRII\_VGEN)。そして、ウイルス遺伝子発現ベクターに、海水から得たウイルス由来配列、および菌類ウイルスの遺伝子を導入した。当該ベクターを用いて、糸状菌の二次代謝に与える影響を調べる予定である。