



ウイルスが「尻切れ」遺伝子を活用していることを発見

研究成果のポイント

- ・ クローバ葉脈黄化ウイルスが作る尻切れ遺伝子がウイルスの感染・増殖に必要なことを証明。
- ・ 尻切れ遺伝子はウイルス複製時に特定の塩基配列 (G_2A_6) で生じる変異に起因することを証明。
- ・ 他の病原 RNA ウイルスにも G_2A_6 は存在することから尻切れ遺伝子が働いている可能性がある。

研究成果の概要

RNA (リボ核酸) をゲノムに持つウイルスは、その小さなゲノムの中にウイルスの感染・増殖に必要な遺伝子を詰め込む必要があります。そして、それらを発現させるために様々な戦略がとられています。今回、クローバ葉脈黄化ウイルスが自身のコピーを複製する時に、P3 と呼ばれる遺伝子内のグアニン 2 個とアデニンが 6 個並んだ (G_2A_6) 配列で一塩基の欠損を生じることで、P3 の G_2A_6 より下流部分が欠落した尻切れの P3 遺伝子 (P3N-ALT と名付けた) を発現すること、及び P3N-ALT がウイルスの感染・増殖に必要なことを、北海道大学の薦田 (萩原) 優香研究員、中原健二講師、内藤 哲教授、慶應義塾大学の佐藤昌直特任助教らの研究グループが解明しました。一塩基の挿入・欠損を起こす可能性のある同様の配列は、他の多くの動植物 RNA ウイルスのゲノム上にも多数見つかったことから、他のウイルスにおいても感染・増殖に必要な尻切れ遺伝子を発現している可能性が考えられます。

論文発表の概要

研究論文名 : Truncated yet functional viral protein produced via RNA polymerase slippage implies underestimated coding capacity of RNA viruses (RNA 合成酵素による読み枠のずれを生じる変異により結果的に生じた尻切れではあるが正常に機能するウイルスタンパク質は、RNA ウイルスのコードするウイルス因子のレパートリーを過小評価していることを示唆する)

著者 : 薦田(萩原) 優香 (北海道大学大学院農学研究院), 佐藤昌直 (慶應義塾大学), 厚見 剛 (岩手生物工学研究センター, 国立研究開発法人産業技術総合研究所), Sun Hee Choi, 阿部純也, 福田隼也 (北海道大学大学院農学院), 本庄三恵 (京都大学), 永野 惇 (京都大学, 龍谷大学), 薦田圭介 (北海道大学大学院先端生命科学研究院), 中原健二 (北海道大学大学院農学研究院), 上田一郎 (北海道大学理事・副学長), 内藤 哲 (北海道大学大学院農学研究院, 大学院生命科学院)

公表雑誌 : Scientific Reports 6:21411, DOI: 10.1038/srep21411

公表日 : 英国時間 2016 年 2 月 22 日 (月) (オンライン公開)

研究成果の概要

(背景)

植物に感染・増殖するポティウイルスは、多くの作物や果樹に病気を引き起こし、農業上大きな損害をもたらします。ポティウイルスを含む多くの植物ウイルスは、DNAではなくてRNAをゲノムに持つRNAウイルスです。一般にRNAウイルスはゲノムサイズを大きくできないため、感染・増殖に必要な遺伝子を詰め込む必要があり、様々な戦略をとっています。例えば、ポティウイルスは複数の機能タンパク質をつなげた「ポリタンパク質」を作る戦略をとっています。ポティウイルスは、ゲノム上にポリタンパク質を作るために非常に大きなオープンリーディングフレーム(ORF、タンパク質をコードする三つ組み暗号の塩基配列)を持ち、いったんポリタンパク質を合成した後で、ポリタンパク質を10個の機能タンパク質に切断して使います。RNA上のORFからアミノ酸の連なりであるタンパク質が作られる時、3塩基が一つのアミノ酸を指定する「読み枠」に沿ってタンパク質に翻訳されていきます。最近、その大きなORF上で機能タンパク質P3をコードする領域に、重複してPIPOと呼ばれる小さなORFが「-1」塩基分ずれた読み枠に見つかりました。このPIPOがコードするタンパク質はP3の前半部分のタンパク質が合成される途中で読み枠が「-1」塩基分ずれてPIPOのコードするタンパク質と融合した、P3N-PIPOタンパク質として発現していることが報告されました。しかしながら、このP3N-PIPOが発現するために、どうやって読み枠がずれるのかは分かっていませんでした。

(研究手法・成果)

無細胞タンパク質合成系にP3遺伝子断片を加えた時、P3タンパク質に加えてP3N-PIPOタンパク質が合成されるのか調べたところ、「-1」塩基分、PIPOがある読み枠にずれて生じるP3N-PIPOだけでなく、意外にも、反対の「+1」塩基分ずれた読み枠から翻訳されたタンパク質を発見し、これをP3N-ALTと命名しました(図参照)。この「+1」塩基分ずれた読み枠には終止コドン^{注1}が頻繁に現れるためすぐに翻訳を終えてしまうので、尻切れのP3タンパク質になってしまいます。しかしながら、その後の解析で、この尻切れ遺伝子P3N-ALTがウイルスの感染・増殖に必要なことを明らかにしました。では、どのようなメカニズムでP3N-PIPOとP3N-ALTが発現しているのでしょうか。我々は次世代シーケンサーを用いたウイルスのゲノムRNAの解析を行い、PIPOのORFの先頭に位置するグアニン2個+アデニン6個(G₂A₆)配列のところで一塩基挿入及び欠損により、「-1」及び「+1」塩基分の読み枠のずれが生じてP3N-PIPOとP3N-ALTが発現することを証明しました。さらに、公共データベースに登録されている他の多くのRNAウイルスのゲノム塩基配列にも一塩基挿入及び欠損を生じる可能性のある同様の配列が多く見つかりました。

(今後への期待)

これまでP3N-ALTのような尻切れ遺伝子がウイルスの感染・増殖に必要な機能を果たすとは考えられていませんでした。本研究で初めて尻切れ遺伝子であるP3N-ALTがウイルスの感染・増殖に必要な機能を果たすことを証明しました。他の多くのRNAウイルスでも尻切れ遺伝子が発現している可能性があり、この可能性を考慮して研究をすすめることでウイルスの感染・増殖や病原性に関わる新たな発見が期待されます。

お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院農学研究院 講師 中原 健二(なかはら けんじ)
TEL：011-706-2490 FAX：011-706-2483 E-mail：knakahar@res.agr.hokudai.ac.jp
ホームページ：http://www.agr.hokudai.ac.jp/rfoa/abs/abs1-4.html

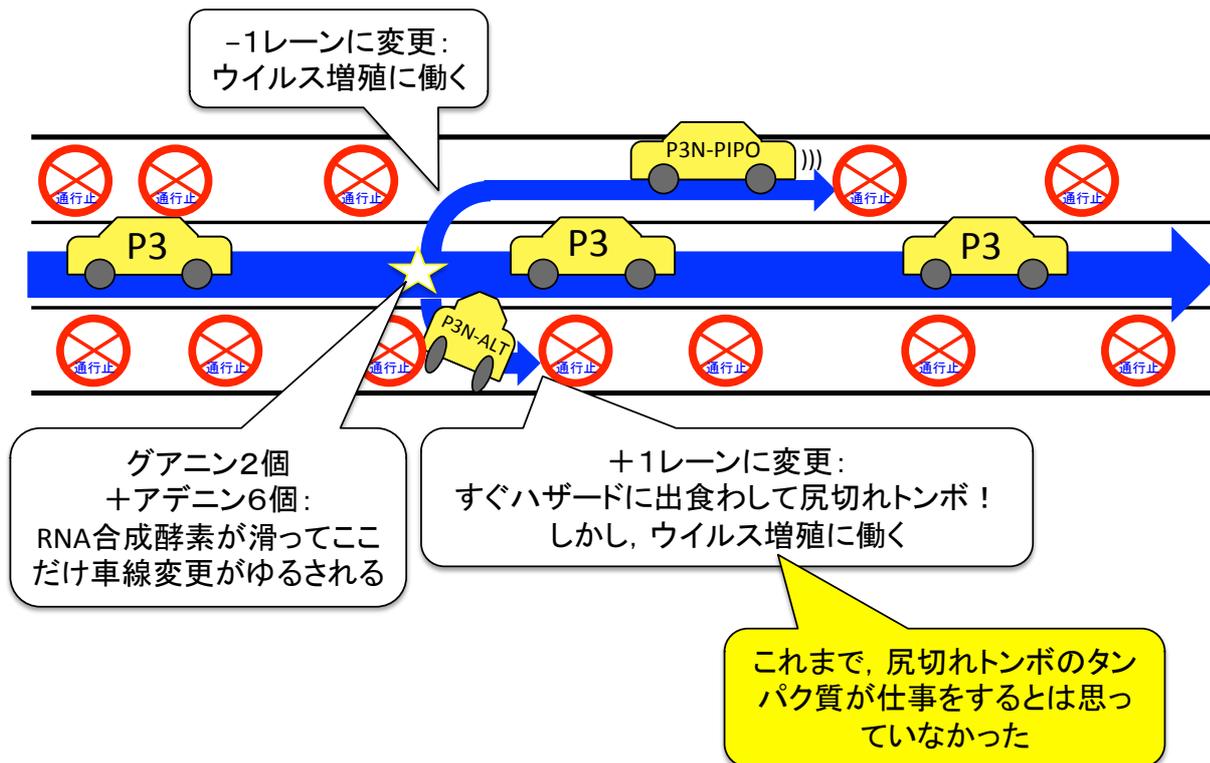


図. 戻切れ遺伝子 P3N-ALT ができるイメージ

すぐ行き止まり（タンパク質への翻訳が終了）なのに、センターライン（ウイルスゲノム上の大きな ORF）の途中のグアニン 2 個とアデニン 6 個が連なる塩基配列（G₂A₆）で+1 のレーン（読み枠）に車線変更する車があり、少量 P3N-ALT タンパク質ができます。この戻切れ遺伝子 P3N-ALT が、ウイルスの感染・増殖に必要でした。

[用語解説]

注 1 終止コドン タンパク質への翻訳を終了させるために使われる塩基配列の三つ組み暗号。具体的にはウラシル・アデニン・グアニン（UAG）や UAA, UGA が終止コドンである。それら以外の三つ組み暗号では指定するアミノ酸があるが、終止コドンには指定するアミノ酸がないために、タンパク質への翻訳が終了してしまう。そして、一般にタンパク質をコードしていない読み枠（ORF ではない読み枠）にはこの終止コドンが頻繁に現れることから、下図のように「+1」塩基分、読み枠がずれると同じ塩基配列でもタンパク質への翻訳がすぐに終了してしまうことになる。

