

環境とバイオテクノロジー
2020 年度採択研究者

2020 年度 年次報告書

二宮 章洋

筑波大学 生命環境系
研究員

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

糸状菌に菌類ウイルスを感染させる新たな手法を検討するとともに、ウイルス由来遺伝子を糸状菌中で発現させる手法を確立した。

既存の手法と比べて幅広い糸状菌に適用でき、かつ簡便なウイルス感染法として、パーティクルガンを用いた手法を試みた。ウイルスが重感染した糸状菌の菌体を破碎後、多段階の遠心分離によってウイルス由来の二本鎖 RNA を含む画分を得た。当該画分にはウイルス粒子が含まれると考えられる。得られたウイルス粒子、および、薬剤耐性遺伝子を含む自己複製型ベクター pPTRII を金粒子に吸着させ、パーティクルガンを用いて金粒子を糸状菌の胞子に射出した結果、薬剤耐性を示す株を得ることができた。これらの薬剤耐性株は、金粒子、および pPTRII と共にウイルス粒子が導入された可能性があるため、ウイルス導入候補株とした。候補株の中には異常な菌糸形成や色素産生を示す株が含まれていた。これらの候補株について、逆転写 PCR によってウイルス感染の有無の確認を進めている。

また、ウイルス由来遺伝子を糸状菌中で発現させるためのベクターを作製した。先述した pPTRII ベクターに構成的プロモーターとターミネーターを導入し、ウイルス遺伝子発現ベクター pPTRII_VGE を得た。当該ベクターを用いて菌類ウイルス由来 ORF を糸状菌内で発現させることに成功した。