

◎ 蔡慶修

回到中興大學這幾年的研究方向，大致上專注在了解植物病毒如何在植物細胞體內繁殖其後代。我們知道有多數的植物病害都是由病毒所引起的，如果能夠深入的了解病毒的生命週期，尤其是病毒在植物細胞內複製的起始步驟，則對於病毒侵害植物的防範有莫大的助益。由於這些病毒大部份是以一種正極性方向的核糖核酸為其遺傳物質，所以一進入植物細胞時，這個病毒就開始生產病毒自己所專屬的蛋白質稱為「病毒核酸複製酵素」來進行病毒的複製。由於進行複製時的程序相當複雜，因此這些病毒所專屬的核酸複製酵素就會和寄主的蛋白質進一步結合而形成所謂的「病毒複製酵素複合體」。這個複製酵素複合體能夠很精確的辨識「病毒核酸基因體」的特定區域，然後進行複製的起始步驟。因此我們針對「病毒複製酵素複合體」與「病毒核酸基因體」的特定片段之間的關係作了進一步的探討。

一般來說，「病毒核酸基因體」能夠被「複製酵素複合體」辨識結合的特定區段常常位於基因體的尾端我們稱為「端」。這個區段常會自主性的形成很特別的立體結構，在經由這個特別的結構及結構上的特殊核酸序列的組合來達到和「複製酵素複合體」專

一性的結合。所以「病毒核酸基因體」尾端所形成的結構就是我們較有興趣的研究主題。為了對「病毒核酸基因體」所形成的結構作進一步的了解，我們利用電腦程式來預測其可能的結構，並利用核酸分解酵素及化學藥品修飾的方法來印證電腦所預測的結構。

我們所選用的材料為竹嵌紋病毒，因為竹子本身就具有相當濃厚的東方色彩，而且台灣的竹類大多數也都被這個病毒所感染。竹嵌紋病毒就是一個以單一正極性核酸為基因體的植物病毒，除了以竹子為寄主外，亦可以感染大麥，白藜，和煙草等植物。我們針對其「核酸基因體」的尾端所形成的特別結構進行研究發現，這個區域是由連續五個髮夾式迴路圈所組成，尤其在最後一個可進一步的折疊成罕見的結構稱為「偽結」。由於結構的形成如果不能與其所能扮演的功能相配合，那就無法得知這些核酸結構在病毒複製過程中所代表的意義。因此我們必須建立研究其功能的方法。在研究植物病毒複製機制的領域中，最重要的工作即是能夠建立在「生體內」或「生體外」的複製偵測系統。生體內的複製偵測系統就是能夠在試管裏合成具感染能力的病毒核

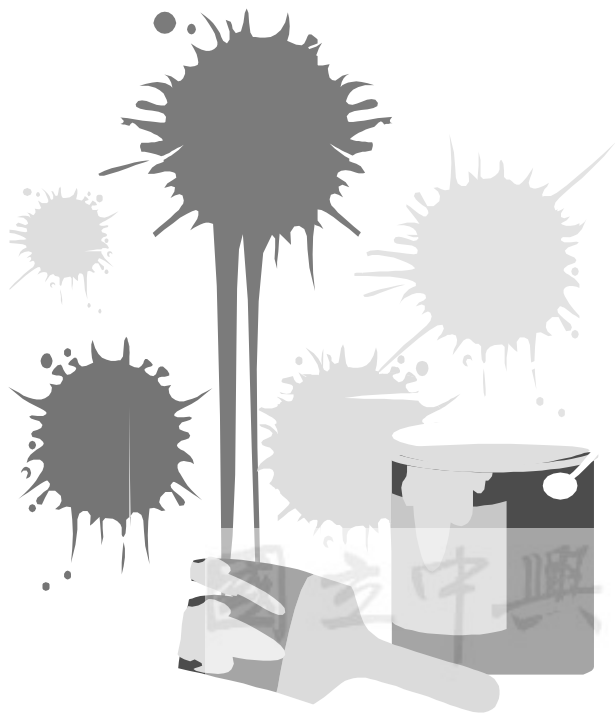
酸基因體，再將這個核酸接種至植物的原生質體或植物體內，來探討病毒在植物細胞內的複製狀況。其中最重要的兩個困難瓶頸為建立全長且具感染力的病毒核酸基因體的合成系統，及原生質體的接種系統。這幾年我們突破了這些瓶頸建立了生體內的複製偵測系統。我們針對病毒複製的起始位置亦即所謂的「啟動子」進行研究，利用定點突變法將這些結構破壞後再用生體內的複製偵測系統來觀察這些結構與病毒複製的關係。結果發現這些結構確實和病毒的複製有相關。這個結果再加上進一步的核酸結構研究，使我們的論文能夠發表於在病毒及生化領域中排名相當好的期刊中。

我們除了建立了「生體內」的複製偵測系統外，我們也積極的建立「生體外」的複製偵測系統，我們分別從感染胡瓜嵌紋病毒或竹嵌紋病毒的煙葉中抽出具有「核酸複製酵素複合體」的蛋白萃取液。有了這個萃取液後，我們就可以在試管中來模擬病毒核酸複製的情形，如此可以進一步了解病毒複製過程中每一個生化反應的步驟。經過多年的努力我們終於得到具有專一性的竹嵌紋病毒的複製酵素複合體。我們利用這個酵素複合體來進行生體外的核酸複製來做結構的功能分析。也就是我們將一段含有啟動子的核酸序列和這個酵素一起反應，則這個酵素就能辨識這個有核酸結構的啟動子，然後複製另外一股。對於這個結果我們也已發表在相當不錯的病毒雜誌中。

我們除了建立了這兩種生體內及生體外病毒複製的偵測系統外，我們更相信這些結構及結構上的專屬序列可能和病毒「複製

酵素複合體」結合，爲了進一步得知是寄主的蛋白質亦或是病毒自己所專屬的蛋白質和這些結構結合，我們則從孟孟孟教授的實驗室所純化出的病毒核酸複製酵素來和這個核酸結構進行蛋白質「核酸的結合分析，結果發現病毒所專屬的核酸複製酵素除了能夠專一性的和其中一個髮夾式迴圈上的特定序列結合，還可以與最尾端的部分序列結合，這個結果我們也發表在病毒領域排名最前面的期刊。

(作者係母校生物科技學研究所教授)



National Chung Hsing University