

ID No.	3033
研究課題名	インフルエンザウイルスのゲノムパッケージング機構に関する研究
研究代表者	野田 岳志 (京都大学・教授)
研究組織	
受入教員	河岡 義裕 (東京大学医科学研究所・教授)
研究分担者	中野 雅博 (京都大学・助教) 村本 裕紀子 (京都大学・助教) 武長 徹 (京都大学・技術補佐員) 宮本 翔 (京都大学・大学院生)
研究報告書	
<p>インフルエンザウイルス粒子は、8種類8本のRNA分節(RNP複合体)を”1+7(中心に1本、その周囲に7本)”の並びに配置させることで選択的に取り込む。各RNA分節のコード領域の両末端には分節特異的パッケージングシグナル領域が存在し、それらが相互作用することで8種類のRNA分節の選択性が担保されると考えられている。しかし、どのRNA分節のどの塩基同士がRNA分節間相互作用に参与し、8種類のRNA分節がどのような相互作用ネットワークを形成するか、明らかにされていない。そこで本研究では、A型インフルエンザウイルスのHA分節をモデルとして、選択的ゲノムパッケージングにおけるゲノムRNA分節間相互作用の解明を試みた。</p> <p>A/WSN/33株(H1N1)を用いて、HA分節の5'端あるいは3'端パッケージングシグナル領域に複数のサイレント変異を導入した変異ウイルスをリバースジェネティクス法により作出した。これらの変異体シリーズのうち、HA分節のパッケージング効率およびウイルス力価が減少する変異ウイルスを1種類見出した。本変異ウイルスのHA分節のゲノムパッケージング効率は、野生型ウイルスと比べ減少していた。復帰変異を獲得させるため、その変異ウイルスの継代を10回繰り返したところ、ウイルスタイトーの増加が認められた。HA分節のパッケージング効率も復帰していた。10代継代後の変異ウイルスゲノムのシーケンスを実施したところ、HA分節とPB2分節の5'端側のパッケージングシグナルにそれぞれ新たに点変異が導入されたことを見出した。そこで、HA分節とPB2分節をin vitro transcriptionにより合成しgel shift assayを行ったところ、両RNA分節の5'末端同士に相互作用が認められた。また、ウイルスタイトーが減少した変異ウイルスに導入したサイレント変異をHA分節に導入したところ、gel shift assayにおいてPB2分節との相互作用が失われた。以上のことから、選択的ゲノムパッケージングの際にHA分節とPB2分節の間に相互作用が存在すると考えられた。現在までに、本成果を論文にまとめBioRxivに投稿した。</p>	