

| | | |
|-------|-----------------------------|---|
| No. | 22-3067 | |
| 研究課題名 | ヒトヘルペスウイルス6の指向性を規定する宿主機構の研究 | |
| 研究代表者 | 有井 潤（神戸大学・准教授） | |
| 研究組織 | 受入教員 | 川口 寧（東京大学医科学研究所・教授） |
| | 分担者 | 川口 寧（ウイルス病態制御分野・教授） |
| | 分担者 | 加藤哲久（ウイルス病態制御分野・准教授） |
| | 分担者 | 小柳直人（ウイルス病態制御分野・助教） |
| | 分担者 | 丸鶴雄平（ウイルス病態制御分野・助教） |
| | 分担者 | 竹島功高（ウイルス病態制御分野・特任研究員） |
| | 分担者 | 黄 経霖（神戸大学・大学院医学研究科・附属感染症センター・博士課程 大学院生） |
| | 分担者 | 倉橋 幸也（神戸大学・大学院医学研究科・附属感染症センター・博士課程 学生） |
| | 分担者 | 前田史雄（産業技術総合研究所・研究員） |

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書 (年次終了・研究完了)【国内】

共同研究報告 (年次終了)

ヒトを宿主とするヘルペスウイルスは、9種存在し、それぞれが多彩な病態を引き起こす。これらのウイルスは、類似した遺伝子群を持ち、細胞内におけるゲノム複製、粒子形成機構はほぼ同一である。核内カプシドの核外輸送は、核内でゲノム複製し細胞質で粒子形成が完了するヘルペスウイルスにとって必須の過程であり、全ヘルペスウイルスに保存されたウイルス因子Nuclear egress complex (NEC)によって引き起こされる。今年度は、核内カプシドの核外輸送の分子機構を明らかにするため、同機構に寄与する新規宿主因子の同定を試みた。

(i) 2種のNEC構成因子にそれぞれタグを挿入した組換えウイルスを作成した。このウイルスを感染させた細胞から、二種のタグを用いてNECを精製した。精製したNECを質量解析に供することで、感染細胞においてNECと相互作用する新規宿主因子群を同定した。

(ii) 質量解析の結果得られた、NECと相互作用する可能性のある因子群に対するCRISPR/Cas9 KOライブラリを作成し、核膜標識した細胞に導入した。この細胞にウイルスを感染させ、核膜の形態変化を指標にすることで、核内カプシドの核外輸送が阻害されるクローンの選抜を行った。これらのスクリーニングの結果、オーファントランスポーターであるSLC35E1を同定した。

(iii) SLC35E1の欠損は、ウイルス増殖能を低下させ、感染細胞における核膜間ウイルス粒子の蓄積が観察された。特に核膜における陥入構造内に、小胞に包まれたウイルス粒子が蓄積する、という電子顕微鏡像は、「カプシドの核外輸送が阻害された変異ウイルス」感染細胞において認められるものと類似していた。

これらのことから、SLC35E1はヘルペスウイルスカプシドの核外輸送に寄与する新規宿主因子であると考えられた。欠損細胞における特徴的な電子顕微鏡像から、SLC35E1は特に核外膜と核膜間粒子との融合過程に貢献することが示唆された。SLC35E1はトランスポーターとされているが、カーゴや生理学的機能不明である。そのため、SLC35E1がどのような機序で核外膜と核膜間ウイルス粒子との融合に影響を与えているのかは、現時点では不明である。本研究は、細胞生物学上ユニークかつ詳細が不明であるヘルペスウイルスカプシドの核外輸送の分子機構解明に向けた第一歩になると考えられる。