

檜原知里 論文内容の要旨

主 論 文

Roles of the three L-domains in β -retrovirus budding
 β レトロウイルスの出芽機構における 3 種類の L ドメインの機能解析

檜原知里、安田二郎

Microbiology and Immunology, *in press*

長崎大学大学院医歯薬総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：安田二郎教授)

【緒 言】

レトロウイルスの主要構造タンパク質である Gag は、ウイルス粒子形成および出芽において必須な役割を担っている。Gag に存在する L ドメインと呼ばれる 4 アミノ酸配列がウイルス出芽に重要な機能をもつことが知られているが、この L ドメインはレトロウイルス以外にも多くのエンベロープウイルスのマトリクスタンパク質に存在し、ウイルス出芽を制御することが明らかになっている。L ドメインのコンセンサス配列としては、これまでに PPxY、PT/SAP、YxxL、FPIV の 4 種類が同定されており、これらの L ドメインには、後期エンドソーム（多胞体：Multivesicular body (MVB)）形成に関与する ESCRT と呼ばれる複合体を構成する因子が相互作用することが報告されている。このことは、ウイルスが細胞の MVB 形成機構を利用して出芽することを強く示唆する。

一方、ウイルス種によって 1 種類の L ドメインのみをもつもの、複数の L ドメインをもつものがあるが、複数の L ドメインをもつ意義については良くわかっていない。 β レトロウイルス属の Mason-Pfizer monkey virus (M-PMV) は Gag に 3 つの L ドメインモチーフ配列 (PPPY、PSAP、YADL) が存在する稀有なウイルスである。本研究では、M-PMV の Gag に存在する其々の L ドメインがどのように機能しているのかを明らかにすることにより、ウイルスが複数の L ドメインをもつ意義の解明を試みた。

【対象と方法】

複数存在する L-ドメインが細胞種ごとに使い分けられている可能性を検証する為に、3 つの L-ドメインのそれぞれに変異を導入した M-PMV 感染性クローンを作成し、由来の異なる 3 種の細胞株（293T 細胞、HeLa 細胞、COS-7 細胞）に導入し、ウイルスタンパク質合成、キャプシド形成、細胞内 Gag 輸送、ウイルス産生を Western blot 法および蛍光抗体法により比較解析した。

【結 果】

すべての L-ドメイン Gag 変異体は 293T、HeLa、COS-7 細胞において野生型と同じレベルで発現した。また、キャプシド形成もすべての変異体で全 3 種の細胞において確認された。ウイルス産生に関しては、各 L-ドメイン変異体で異なる結果が示された。

PPPY 欠失変異体は何れの細胞においてもウイルスを産生しなかった。PSAP 欠失変異体は 293T、COS-7 細胞では野生型と同程度にウイルスを産生したが、HeLa 細胞ではウイルスを産生しなかった。YADL 配列に対しては 1 アミノ酸変異体である AADL 変異体、YAAL 変異体、YADA 変異体を作製したが、AADL および YADA 変異体は何れの細胞からもウイルスを産生しなかった。一方、YAAL 変異体は 293T、HeLa 細胞ではウイルスを産生したが、COS-7 細胞ではウイルスを産生しなかった。

ウイルス産生が確認されなかった細胞において、PPPY 欠失変異体と PSAP 欠失変異体はウイルス出芽の場である細胞膜に正常に Gag が輸送されていたのに対し、YADL 配列に変異を導入した Gag は細胞膜での局在が見られなかった。

これらの結果は、PPPY 配列は何れの細胞においても L-ドメインとして機能しているが、PSAP 配列は HeLa 細胞では L-ドメインとして機能しているものの、293T、COS-7 細胞では L-ドメインとして機能していないことを示した。また、YADL 配列は L-ドメインとして出芽に関与するのではなく、Gag の細胞膜への輸送に関わるドメインであることが示唆された。

【考 察】

以上の成績から、複数の L-ドメインをもつウイルスは感染する細胞種によって利用する L-ドメインを使い分けられていることが示され、この L-ドメインの使い分けが生体内におけるウイルス感染の細胞・組織特異性に関与している可能性が示唆された。