



外来遺伝子発現量を調節できる 新規LCMVベクター開発

微生物病研究所 新興ウイルス感染症研究グループ

特任准教授 岩崎 正治

Researchmap https://researchmap.jp/m_iwasaki

研究の概要

LCMV (リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス) は、5'末端にcap構造を持つが、3'末端はポリA付加を受けないmRNAを生成する。我々はこれまでの研究で、ウイルスゲノムの遺伝子間領域 (intergenic region, IGR) に由来する、ポリA付加を受けない3'-UTRがウイルスmRNAの翻訳効率を制御することを明らかにしてきた。本研究では、3'-UTRの中でも、ORF直下のごく狭い領域 (proximal region, PR) が翻訳制御に特に重要な役割を果たすことを見出した。さらに、IGRのPRに相当する配列を改変することで、上流に配置したレポーター遺伝子発現量を変化させられることを、組換えLCMVを用いた解析で明らかにした。

研究の背景と結果

アレナウイルス科には、ヒトに致死的な出血熱症を引き起こす病原体が複数存在する。中でも、ラッサ熱の原因となるラッサウイルスが人類に対する影響が最も大きい。ラッサウイルスは毎年西アフリカで推計約90万人に感染し、入院が必要な患者の致死率は約15%と非常に高い。一方で、全世界に分布し、アレナウイルスのプロトタイプとされるLCMVは、LASVと遺伝学的に近縁であり、biosafety level-2 (BSL-2) 施設で取扱い可能なため、LASVのモデルウイルスとしても利用されている。我々はこれまでの研究で、IGRに由来する3'-UTRがウイルスmRNAの翻訳効率を制御することを明らかにし、IGRの改変によるラッサウイルス弱毒生ワクチン株の作製に取り組んできた。本研究では、ウイルスmRNAの翻訳を制御する3'-UTR配列を詳細に解析するため、翻訳効率の高いLCMVヌクレオプロテイン (NP) mRNA及び翻訳効率の低い糖タンパク質前駆体 (GPC) mRNAのUTR配列でレポーター遺伝子ZsGreenのORF配列を挟んだ配列をもつウイルスmRNA様RNA (vImRNA) を用いたレポーターアッセイシステムを構築した (図1)。3'-UTR配列をNP mRNAとGPC mRNA間で入れ替えたキメラvImRNAを用いた解析を行い、NP mRNAのORF直下のわずか10塩基の配列及びその2次構造が翻訳を促進することを明らかにした。レポーター遺伝子直下のPR配列を改変した組換えLCMV (図2) を作製したところ、レポーターアッセイの結果と一致したレポーター遺伝子の発現量の変化が見られた (図3)。すなわち、PR配列を改変することで、搭載した外来遺伝子発現量を調節できることが明らかになった。

研究の意義と将来展望

LCMVには長期間の細胞性免疫を誘導する特性があり、がん免疫療法のウイルスベクターとしての利用が期待されている。本研究の成果は、PR配列の改変によって外来遺伝子発現量と弱毒化の程度を細かく調節 (fine-tuning) したLCMVベクター開発に応用できる。さらに外来遺伝子発現量を調節できるLCMVベクターは、iPS細胞作製のような、外来遺伝子発現量の厳密な制御が必要なアプリケーションへの利用が期待される。

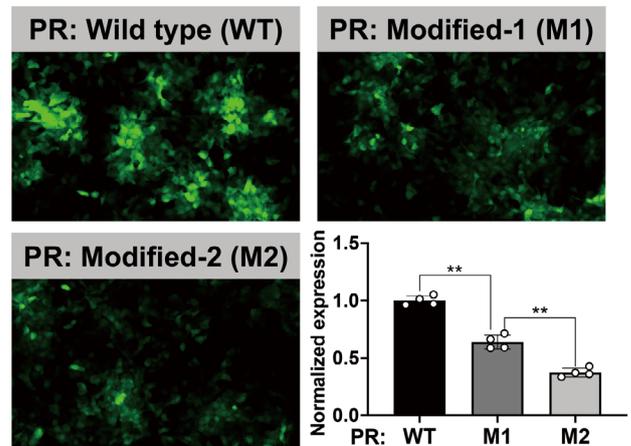
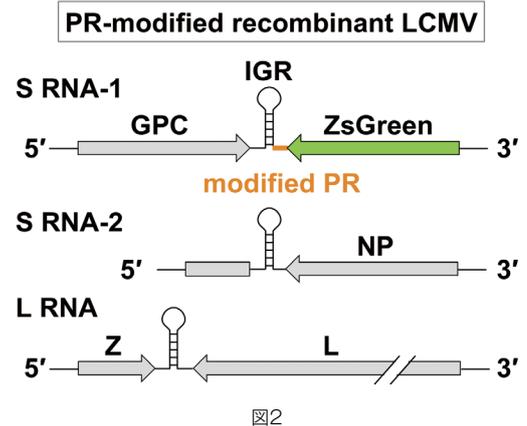
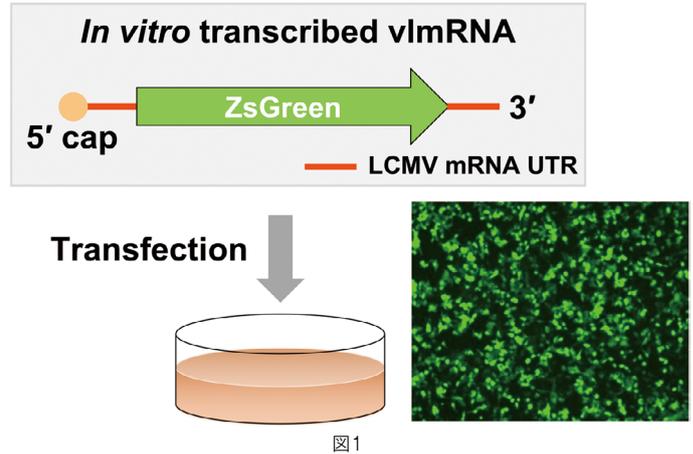


図3

特許

論文

Hashizume, Mei; Takashima, Ayako; Iwasaki, Masaharu. A small stem-loop-forming region within the 3'-UTR of a non-polyadenylated LCMV mRNA promotes translation. Journal of Biological Chemistry, 2022, 298 (2): 101576. doi: 10.1016/j.jbc.2022.101576

参考URL

<https://iwasaki-lab.biken.osaka-u.ac.jp>

キーワード

ウイルスベクター、非翻訳領域、翻訳制御