

ヤギおよびヒツジのウイルス抵抗性 Mx 遺伝子に関する研究

二宮彰紀

家畜改良増殖学分野

[目的] Mx 遺伝子は I 型 IFN によって発現が誘導され、様々なウイルスの増殖を抑制することが知られている。ヒツジにおいては $Mx1$ および $Mx2$ が存在し、 $Mx1$ プロモーター領域と予想される塩基配列も報告されている。しかし、そのウイルス抵抗性に関する報告はまだない。また、ヤギにおける Mx 遺伝子に関する報告は全くない。そこで、本研究ではヤギおよびヒツジ Mx cDNA 塩基配列の同定と抗ウイルス活性の測定、およびプロモーター領域の機能解析を行い、抗病性育種の基礎的知見を得ることを目的とした。

[方法] ヤギ(雑種)およびヒツジ(コリデール種)血液から白血球を単離し、IFN 処理を施した後、total RNA を抽出した。RT-PCR により $Mx1$ および $Mx2$ cDNA を合成し、塩基配列を決定した後、GFP 組換え水疱性口内炎ウイルス(VSV)を用いて感染実験を行った。また、GFP 融合 Mx タンパク質を利用して細胞内局在の観察を行った。一方、5'RACE 法を用いた RT-PCR により、ヤギ $Mx1$ の 5'末端の塩基配列を決定および転写開始点を推定した。さらに、ゲノム DNA を抽出し、PCR によりヤギおよびヒツジ $Mx1$ プロモーター領域の塩基配列を決定した後、レポーターアッセイによりプロモーター活性を測定した。

[結果] ヒツジ $Mx1$ では、ヒツジデータベース(品種不明)と比較して、2 箇所の塩基置換と 2 箇所のアミノ酸置換が検出された。 $Mx2$ については 3 箇所の塩基置換と 2 箇所のアミノ酸置換が認められた。ヤギ $Mx1$ については、20 箇所の塩基置換とそれに伴う 8 箇所のアミノ酸置換を確認した。 $Mx2$ については、37 箇所の塩基置換と 12 箇所のアミノ酸置換が認められた。ヤギおよびヒツジ $Mx1$ あるいは $Mx2$ mRNA 発現細胞は、いずれも 50%程度 VSV に対する抗ウイルス活性を示した。GFP 融合 Mx タンパク質を用いて細胞内局在を観察した結果、ヤギとヒツジ $Mx1$ および $Mx2$ タンパク質はともに細胞質に顆粒状に局在したが、 $Mx2$ は $Mx1$ に比べ弱い凝集性を示した。

$Mx1$ プロモーター領域については、ヒツジデータベースと比較して、ヒツジでは 3 箇所の塩基置換、ヤギでは 15 箇所の塩基置換と 1 箇所の 1 塩基欠損が検出された。レポーターアッセイを行った結果、いずれも IFN 応答性を示した。

[考察] ヤギおよびヒツジ間において Mx 遺伝子は相同性が高く抗ウイルス活性を有していたことから、自然免疫機構において重要な機能を有していることが推定された。ヤギおよびヒツジ $Mx1$ プロモーター領域は IFN に対する応答性が明瞭に認められたことから、ウイルスの侵入を感知した生体内において Mx タンパク質産生が亢進されることが示唆された。