

ニワトリおよびブタにおけるウイルス抵抗性 Mx 遺伝子に関する研究

家畜生産生物学講座 家畜改良増殖学分野
佐々木 恵亮

【背景と目的】Mx 遺伝子は、生体へのウイルスや細菌の感染を機に一過性に放出されるインターフェロンによって、発現が誘導される遺伝子である。転写翻訳後の Mx タンパク質は、様々なウイルスの増殖を抑制する。家畜における Mx 遺伝子の研究は、ニワトリ Mx およびブタ Mx2 において特定の 1 アミノ酸置換が、抗ウイルス活性を左右すると考えられており、そのアミノ酸置換を指標とした家畜育種への応用が期待されている。また、Mx タンパク質では細胞内局在も重要視され、細胞内における存在場所や形状が抗ウイルス活性に影響を及ぼすと考えられている。そこで、本研究では、ニワトリ Mx およびブタ Mx2 において特定の 1 アミノ酸がもたらす抗ウイルス活性と細胞内局在への関連性を検証することを目的とし、ニワトリ Mx およびブタ Mx2 タンパク質における抗ウイルス活性の測定と細胞内局在の観察を行った。

【方法】ニワトリおよびブタ全血中由来の血球単核細胞より totalRNA を抽出し、RT-PCR 法によって Mx cDNA を哺乳類発現ベクターにクローニングした。これをマウス 3T3 細胞に遺伝子導入し、Mx 遺伝子が発現した均一な細胞クローン群を得た。その細胞に GFP 組換え水疱性口内炎ウイルス (VSV) を感染させ、GFP の蛍光シグナルを指標に抗ウイルス活性を測定した。さらに、Mx cDNA を GFP 発現ベクターにサブクローニングし、得られたベクターをマウス 3T3 細胞に遺伝子導入することで、Mx タンパク質の細胞内局在を観察した。

【結果】ニワトリ Mx タンパク質は 631 番地アミノ酸がセリンの場合 VSV の増殖を抑制せず、かつ細胞質内に一様に分布した。そして、アスパラギンの場合 VSV を抑制し、かつ細胞質内に顆粒状に局在した。

ブタ Mx2 タンパク質は 514 番地アミノ酸がグリシンの場合 VSV の増殖を抑制しなかったが、アルギニンの場合抑制が認められた。しかし、514 番地の差異によっては細胞内局在に違いは認められなかった。一方、706 番地がアラニンの場合に核に強く局在し、かつ細胞質全体に分布したのに対し、セリンの場合に細胞質に顆粒状に局在した。

【考察および結論】ニワトリ Mx における 631 番地は、Mx タンパク質の細胞内におけるオリゴマー形成に関与する領域であるため、このアミノ酸置換によって Mx のオリゴマー形成能を損ない、局在する形状が変化したと推測された。このオリゴマー形成は、タンパク質分子の安定性に関与していると考えられているため、631 番地のアミノ酸置換が Mx タンパク質分子の早期分解等を促すことで抗ウイルス活性が失われたと考えられた。ブタ Mx2 は 514 番地の 1 アミノ酸置換による抗ウイルス活性と細胞内局在の関与は認められなかった。この 514 番地は、ウイルス認識に関与する領域であるため、本置換によって、ウイルス認識能が損なわれたと考えられた。また、706 番地のアミノ酸は細胞内局在に影響を与えることが明らかになったが、抗ウイルス活性との関与は認められなかった。これらのことから、Mx タンパク質の動物種による多型が、とくにウイルス抑制機能にさをもたらすことが示唆された。