

アフリカ馬疫ウイルス及び関連ウイルスの分子生物学的解析

研究期間：平成12年度～平成13年度

研究代表者：井上 互（農業技術研究機構）

研究課題の概要

豚水泡病ウイルスの病原性の分子機構を明らかにするため、病原性の分子機構の全容解明を目的とする。得られた成果を活用し、病原性遺伝子を標的とする新しい診断法の開発及び非病原性遺伝子を応用したワクチン開発、更に病原性分子機構に基づく新しい予防法の開発を目指す。

(1) 総評

研究課題「アフリカ馬疫ウイルス及び関連ウイルスの分子生物学的解析」は国際二国間協力共同研究であり、豚水泡病ウイルスの病原性決定遺伝子の決定ならびに病原性発現の分子機構を解明し、有効な診断法・予防法の開発に資することを目標とする。当該研究期間中、相手国(英国)研究機関パーライトグループには狂牛病処理などの突発的事情があり、このため、当初期待していた十分な相互協力を得ることが出来なかったが、これは国際共同研究に屢々付随する「致し方ない」事であるといわざるを得ない。しかしながら、本邦農業技術研究機構の研究チームは、この頓挫を乗り越え、概ね順調に研究を進め、高い研究成果を挙げたと評価される。目標設定・研究体制も適切であると判断され、優れた研究であるといえる。

ウイルスの病原性に関して、分子ウイルス学的解析を行い、そこから得られた仮説に基づき、遺伝子工学的手法により新規変異ウイルスを構築している。しかしながら、当該ウイルスを用いる実証試験は本邦では許されない状況にあるので、相手国研究機関の研究活動が正常化するのを待ち、これに関する共同研究を継続し、最終結論を得ることが待たれる。〈総合評価：a〉

(2) 各テーマにおける評価結果

豚水泡病ウイルス弱毒株及び強毒株感染性cDNAを用いた病原性変異ウイルスの作出と性状解析

このグループは豚水泡病ウイルスの遺伝子構造を世界に先駆けて明らかとし、感染性cDNAの開発にも成功している。この技術を用い、病原性決定基と思われる2A蛋白の2A20アミノ酸を改変した変異クローン株を作成し、その性状をで述べるアッセイ系やウイルス学的方法で調べた。その結果、変異ウイルスは、2A蛋白活性が高いほど増殖性、細胞病原性が高くなり、プラークサイズも大きくなることを見出し、このことから、2A蛋白が病原性の強弱に関連していると推定した。実際に、この結論が的を得ているか否かについては、豚へ感染する直接的証明を待たねばならない。

豚水泡病ウイルス野外株の病原性関連遺伝子の構造と機能の解析

野外株豚水泡病ウイルスの全遺伝子配列を網羅的に解析し、病原性と関連するウイルス蛋白として2A蛋白を推定した。病原性マーカーとして、2A蛋白が持つ(1)ID-2A結合部切断活性、(2)eIF4G1切断活性、(3)キャップ依存性蛋白合成抑制活性、(4)IRES依存性蛋白合成促進活性を利用したアッセイ系を開発し、これらの系に基づき、弱毒・強毒性ウイルス2A蛋白機能の比較解析を行った。この結果、強毒株と弱毒株の違

いは、強毒株 2A蛋白がより強くeIF4G1を切断し、キャップ依存性蛋白合成を抑制し、IRES依存性蛋白合成を促進することによるウイルス蛋白初期合成促進効果に由来する考察した。

これに加え、野外株（強毒株）89株について2A蛋白の塩基配列を解析したところ、それらの2A20 アミノ酸は全て日本型強毒株が持つArgであることを観察した。

テシオウイルス IRES の構造と機能の解析

豚水泡病ウイルスとは病原性を異にする近縁のテシオウイルスについて、その遺伝子の構造と機能の解析を目的として、IRES領域の同定を試み、既知のピコルナウイルスIRESと異なる塩基配列を有するIRES様構造を見出した。しかしながら、それが真にIRESであるのかどうかについては今後の研究を待たねばならない。

(3) 評価結果

| 総合評価 | 目標達成度 | 目標設定 | 研究成果 | | | 研究体制 | | 国際共同研究 | | |
|------|-------|------|------|---------|------|------|--------|--------|------|----|
| | | | 科学価値 | 科学的波及効果 | 情報発信 | 指導性 | 連携・整合性 | 受入体制 | 海外機関 | 意義 |
| a | a | a | b | a | b | a | a | a | a | a |