

生薬を用いたボルナウイルスとレトロトランスポゾンとの相互作用解析

申請代表者	本田知之	大阪大学大学院医学系研究科	准教授
所外共同研究者	徳永智哉	京都大学ウイルス研究所	大学院生
所外共同研究者	大崎恵理子	大阪大学大学院医学系研究科	助教

【背景・目的】

私たちのゲノムには、様々なウイルス様配列が存在している。申請者らは、非レトロウイルス型 RNA ウイルスであるボルナウイルスの遺伝子配列が宿主ゲノム中に存在することを、世界に先駆けて報告した。これらの配列は、太古の感染細胞中で宿主のレトロトランスポゾンがウイルス配列を逆転写した結果、形成されたと考えられる。しかし、ウイルス感染時のウイルスとレトロトランスポゾンとの相互作用の詳細は全く明らかとなっていない。

生薬には、霍香など抗ウイルス活性を持つものが知られている。一方で、生薬の持つレトロトランスポゾンに関わる活性についてはよくわかっていない。本研究では、レトロトランスポゾンや各種ウイルスを制御する生薬を探索し、両者の相互作用の実態とその意義を明らかにすることを目的とした。

【結果・考察】

①**ウイルスに影響を与える生薬の探索**：RNA ウイルスの複製活性をモニタリングするために、*Gaussia luciferase* 遺伝子を組み込んだボルナ病ウイルス (rBDV-Gluc) を作成した。このウイルスを持続的に感染させた Vero 細胞に、生薬エキス (100 µg/ml) 及び生薬由来化合物 (10 µM) を添加し、*luciferase* 活性を測定することでその効果を評価した。しかし、残念なことに、細胞障害性を認めず BDV 複製を抑制する (<66.7%) 生薬由来物質はライブラリー中に存在しない事が明らかとなった。ライブラリー中の幾つかの化合物については、IFN promoter 活性も測定したが、BDV 複製活性と IFN promoter 活性との間に特に相関を見出すには至らなかった (Fig. 1)。

②**レトロトランスポゾンに影響を与える生薬の探索**：レトロトランスポゾンの逆転写活性は、レトロトランスポゾンの転写レベル、あるいは自身がコードする逆転写酵素の活性などのタンパク質レベルでの制御を受ける。本研究では、レトロトランスポゾン発現抑制に関わる Miwi や Mili のプロモーター配列を *Gaussia luciferase* 上流に組み込み、promoter 活性測定用コンストラクトを構築した。Miwi promoter assay では、promoter 活性を抑制する (<66.7%) 生薬エキス 1 種のみが同定できた。BDV 複製活性と Miwi promoter 活性との間の相関解析を行ったが、両者に明らかな相関を認めなかった (Fig.

2)。

【結論】

本研究により、生薬由来成分中に **Miwi promoter** 活性を抑制する物質が存在することが明らかとなった。また、残念ながら、BDV 複製の阻害物質を決定することはできなかった。以上の結果から、レトロトランスポゾンと BDV に何らかの関連がある証拠は、本研究からは見出せなかった。今後は、より直接的にレトロトランスポゾンの活性を測定し活性抑制に有効な生薬をスクリーニングしたり、他のウイルスに対する抗ウイルス作用を持つ生薬をスクリーニングすることを試みたい。それらの知見は、最終的にはウイルスとレトロトランスポゾンの相互作用の解明の一助になることが期待される。

Fig. 1 BDV 複製活性とインターフェロンプロモーター活性との相関解析

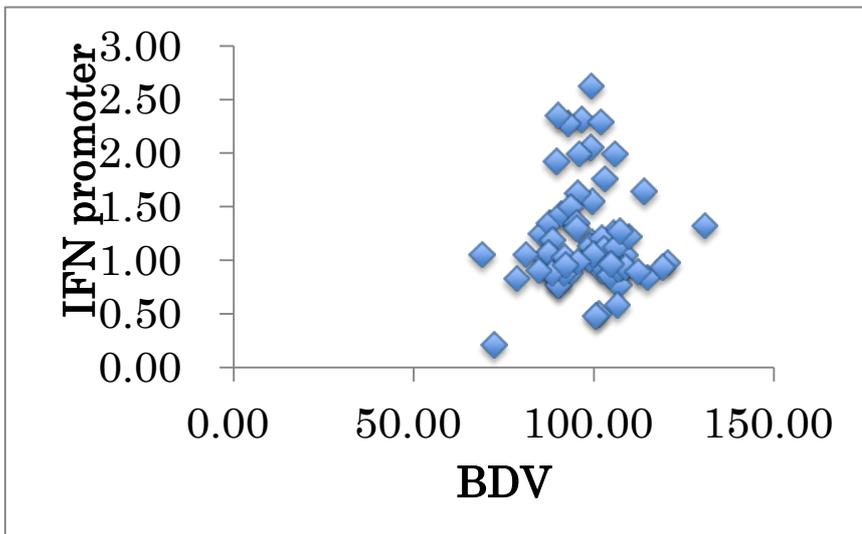


Fig. 2 BDV 複製活性と Miwi プロモーター活性との相関解析

