

30-0191 W21-1

HIV RT 及び AMV RT での逆転写におけるリボヌクレオチドアナログの変異誘発性
○鈴木 哲矢¹, 岡田 利行¹, 大塚 智恵¹, David Loekes², 根岸 和雄¹ (¹岡山大学
支援セ・ゲノム, ²MRC, UK)

【目的】 RNA ウイルスやレトロウイルスの自然突然変異頻度は $10^{-4} \sim 10^{-5}$ と高い。この変異頻度は **error threshold** に近いと推定されており、変異誘発物質等によりこの値を超えて変異が誘発されるとウイルスは死滅すると考えられる。従って、変異誘発物質は抗ウイルス薬となる可能性がある。今回我々は、両義的な塩基対形成能を持つ可能性があるリボヌクレオチドアナログ N^4 -hydroxyCMP ($rC^{oh}MP$), N^4 -methoxyCTP ($rC^{mo}MP$) 及び 3,4-dihydro-6H,8H-pyrimido[4,5-c][1,2]oxazin-7-one riboside (rPMP), について、HIV reverse transcriptase (RT) 及び AMV RT での逆転写によって変異を誘発できるかどうか調べた。

【方法】 すべてのウリジンがアナログに置換された RNA を鋳型として用い、HIV RT 及び AMV RT で逆転写を行い、合成された cDNA についてシーケンスを解析し、アナログの相手にどのヌクレオチドが取り込まれたか調べた。さらに、cDNA をクローニングした後、シーケンスを解析し、変異スペクトルを調べた。

【結果および考察】 その結果、いずれの方法でも、HIV RT 及び AMV RT の両酵素とも、 rC^{oh} , rC^{mo} 及び rP に対して dATP と dGTP を取り込むことが示された。クローニング後のシーケンス解析の結果から、HIV RT は、dGTP に対し dATP を rC^{oh} に対しては 1.8 倍、 rC^{mo} に対しては 3 倍、rP に対しては 6.9 倍の割合で取り込み、AMV RT は、 rC^{oh} に対しては 0.7 倍、 rC^{mo} に対しては 2.7 倍、rP に対しては 5.7 倍の割合で取り込むことがわかった。これらの結果から鋳型 RNA 中の rC^{oh} , rC^{mo} 及び rP は HIV RT, AMV RT に対して両義性を示すことがわかる。従って、これらの 3 つのリボヌクレオチドアナログを RNA 中に取り込ませることができれば AMV, HIV に対して変異を誘発できると考えられる。