

21N-pm07

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス遺伝子 ORF66 は、ウイルス性転写開始前複合体形成を介してウイルス後期遺伝子発現に寄与する。

○渡部 匡史¹, 西村 麻佑¹, 栗山 和志¹, 細川 晃平¹, 橋本 彩¹, 藤室 雅弘¹ (¹京都薬大)

【背景】カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)をはじめとした一部のヘルペスウイルスに保存されている遺伝子群が、ウイルス性転写開始前複合体(viral pre-initiation complex: vPIC)を形成し、ウイルス後期遺伝子発現に寄与することが明らかになってきた。それら遺伝子の一つである KSHV ORF34 が vPIC 構成因子として機能することを我々は明らかにしてきた (Nishimura M. *et al.*, *Sci.Rep.*, 2017)。そこで、次に vPIC 構成因子であることが示唆されているものの、ウイルス複製への影響が未知である KSHV ORF66 に着目した。ORF66 のウイルス複製における生理的意義を評価するとともに、vPIC 形成に必要な分子機構についても検討した。

【方法】ストップコドン配列挿入により ORF66 欠損リコンビナント KSHV-BAC を作製した。これをウイルス産生細胞へと導入し、変異 KSHV 産生細胞株を樹立した。そして、細胞中 KSHV ゲノムならびに溶解感染誘導後の上清中ウイルス粒子量を定量した。あわせて、ORF66 欠損によるウイルス遺伝子発現への影響を、RT-qPCR アレイ法により評価した。また、vPIC のハブとして機能する ORF34 との結合ドメインやアミノ酸残基について、各種 ORF66 欠失・点変異体を用いた Pull-down assay により解析した。

【結果と考察】細胞中 KSHV ゲノム量は野生株、ORF66 欠損株で差異は認めなかったが、ORF66 欠損株のウイルス産生量は野生株に比べ、著減していた。また、ORF66 欠損株にて後期遺伝子群の発現量低下が観察された。以上より、KSHV ORF66 はウイルス産生に必須な遺伝子であるとともに、後期遺伝子群の発現制御に関与することが明らかとなった。さらに vPIC 形成には ORF66 C 末端に存在する特徴的な分子モチーフが重要であることが示唆された。