

## 『ゲノムに大規模同義置換を導入した小球形 RNA ウイルスの病原性と進化、および、ウイルスベクターへの応用の可能性』

望月 知史（大阪府立大学 生命環境科学研究科）

タンパク質をコードする遺伝子の塩基置換において、アミノ酸変異を伴わない同義置換は表現型に影響を与えない中立的な変化が多くサイレント置換と呼ばれている。しかしながら、RNA ウイルスの場合、同義置換によるウイルス RNA 二次構造の変化やコドン使用頻度の変化がウイルス病原性に影響を与えることがある。現存する植物 RNA ウイルスのゲノム配列は宿主植物種において適応的であると思われるが、本研究では、そのウイルスゲノムに大規模同義置換を導入した時に植物 RNA ウイルスがどのように適応進化するのか検討した。

直径約 30 nm の小球形 RNA ウイルスであるキュウリモザイクウイルス (CMV) の外被タンパク質 (CP) 遺伝子 (657 nt) の前半領域あるいは後半領域の 9 アミノ酸のコドンを、単子葉植物が高頻度で使用するメジャーコドン (Maj) あるいは低頻度で使用するマイナーコドン (Min) に大規模同義置換した 4 つの変異株 (wt/Maj, Maj/wt, wt/Min, Min/wt) を用いた。双子葉宿主であるベンサミアナタバコ (以下 Nb) におけるこれら 4 つの変異株のウイルス RNA 蓄積量と競合的適応度は、野生株と比較して、顕著に低下していた。

植物ウイルスのゲノム核酸の複製は複製スピードが早い一方で正確性が低いため、宿主植物に適応した変異株の出現は比較的容易である。病原性が低下した変異株を継代接種して病原性の回復を促した時に、ウイルスゲノムにどのような変異が起こるのかを解析することにより、大規模同義置換に対する RNA ウイルスの適応進化を明らかにできると考え、前半領域を大規模同義置換した Maj/wt と Min/wt について Nb で 15 回継代接種を繰り返した。野生株を含む各 CMV について 3 反復の継代ラインを用いたところ、継代 10 世代目には Maj/wt の 2 ラインと Min/wt の 3 ラインでウイルス RNA 蓄積量が野生株と同程度まで回復した。回復株の CP 遺伝子配列にはそれぞれ 1~2 箇所のアミノ酸変異が認められ、そのほとんどは既知 CMV 系統には見られない新奇アミノ酸変異であった。一方で、回復株の競合的適応度は野生株よりも低下したままであった。

以上の結果より、なぜ大規模同義置換により CMV の病原性が低下したのか、なぜ 1~2 アミノ酸変異によりその病原性が回復したのか、そして、大規模同義置換を導入した変異株の病原性を回復させるアミノ酸変異は小球形 RNA ウイルスを用いたウイルスベクターにどのように利用できるのか、について議論したい。