

令和3年度（2021年度）大分大学グローバル感染症研究センター
共同研究 成果報告書

採択番号	2021B05	
申請者に関する事項	氏名	伊藤 直人
	所属機関名	岐阜大学 応用生物科学部
	職名	教授
研究課題名	狂犬病ウイルス P 蛋白質アイソフォームの抗インターフェロン活性	
研究期間	2021 年 12 月 1 日 ～ 2022 年 3 月 31 日	
本センター対応教員	西園 晃	
令和3年度（2021年度）年度研究成果の概要		
<p>狂犬病ウイルス P 遺伝子 mRNA には同一の読み枠内に 5 つの開始コドンが存在し、各々から P 蛋白質愛祖父オーム P1～5 が翻訳される。これまで、実験室株由来の P1～5 を用いた研究により、それぞれに I 型インターフェロン（IFN）産生シグナルおよび応答シグナル阻害活性の両者が存在することが確認されている。これらの知見により、各アイソフォームの抗 IFN 活性が有望な治療標的となる可能性が示された一方で、実際の治療標的となる野外株の P1 以外のアイソフォームの抗 IFN 活性に関する情報は極めて少ない。</p> <p>そこで本研究では、大分大学が保有する野外株 1088 株に注目し、同株の遺伝子操作系を活用して P 蛋白質アイソフォームを発現しないウイルス株を作出し、その病原性を評価した。また、P 蛋白質アイソフォームを発現するプラスミドを構築した。</p> <p>① 遺伝子操作による P 蛋白質アイソフォーム欠損ウイルス作出</p> <p>大分大学で確立された 1088 株の遺伝子操作系（Isomura et al., J.Gen Virol. 2017）をもとに、P 蛋白質アイソフォーム（P2 から P5 まで）を発現しないよう、各アイソフォームの開始コドンに変異を導入したフルゲノムプラスミドを作出した。これを T7 ポリメラーゼ発現細胞に導入することで、アイソフォーム欠損株 1088 ΔP2-5 の作出に成功した。</p> <p>② 1088 株アイソフォーム発現プラスミドの作出</p> <p>大分大学側にて、1088 株のストックウイルスから抽出したゲノム RNA を鋳型として逆転写反応を実施し、ウイルスゲノム cDNA を合成した。上記 cDNA を鋳型として各アイソフォームをコードする遺伝子領域を PCR により増幅した上で、各増幅 DNA を発現プラスミドベクターである pCAGGS にクローニングした。</p>		