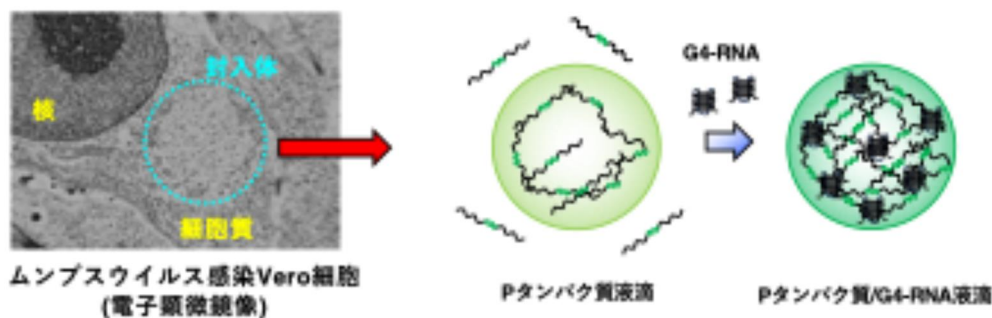


東京大学
熊本大学

グアニン四重鎖構造を持つ RNA がおたふくかぜウイルスの RNA 合成の場を提供する ——おたふくかぜウイルスの封入体形成機構の理解——

発表のポイント

- ◆おたふくかぜウイルス (MuV) は細胞に感染すると封入体と呼ばれる膜のない構造体を形成し、その中でウイルス RNA を合成します。今回、この封入体形成に宿主細胞のグアニン四重鎖構造を持つ RNA が重要な役割を持つことを明らかにしました。
- ◆MuV の封入体の形成に関与する宿主 RNA の特徴を初めて明らかにしました。
- ◆封入体形成は MuV だけでなく多くの RNA ウイルスで見られる共通機構であり、幅広い RNA ウイルスの増殖機構の解明につながることを期待されます。



G4 RNA による封入体内部の分子濃縮増強

概要

東京大学大学院医学系研究科の竹田 誠教授と加藤 大志准教授、熊本大学生命資源研究・支援センターの沖 真弥教授、九州大学生体防御医学研究所の大川 恭行教授、国立感染症研究所の鈴木 忠樹部長らによる研究グループは、おたふくかぜウイルス（注1）の RNA 合成の場である封入体（注2）の形成にグアニン四重鎖構造（注3）を持つ RNA が重要な役割を持つことを明らかにしました。

RNA ウイルスであるおたふくかぜウイルスは、細胞に感染すると封入体と呼ばれる膜のない構造体を形成し、そこでウイルス RNA を合成します。封入体は液-液相分離（注4）によって形成される液滴と考えられていて、多くのタンパク質や核酸 (RNA) が含まれると考えられます。そこで Photo-isolation chemistry（注5）によって、おたふくかぜウイルスの封入体に取り込まれる宿主 RNA を探索した結果、グアニン四重鎖構造を持つ RNA が多く含まれることが明らかになりました。このグアニン四重鎖構造を持つ RNA は、液滴形成実験によって液滴内部の分子を濃縮することが示され、効率よくウイルス RNA 合成を行う上で重要な役割を果たしていると考えられました。本研究の成果は、封入体の形成メカニズムの一端を明らかにしたものであり、RNA ウイルスの RNA 合成機構の解明につながることを期待されます。

本研究成果は、日本時間 2024 年 12 月 7 日に米国科学雑誌「Science Advances」に掲載されました。

発表内容

おたふくかぜ(流行性耳下腺炎)は、耳下腺の腫脹や疼痛、発熱を主症状とする小児の代表的なウイルス感染症です。原因となるおたふくかぜウイルス(Mumps virus: MuV) (注1)は、細胞に感染すると封入体(注2)と呼ばれる膜のない構造体を形成し、その中でウイルスRNAを合成します。MuVなどのモノネガウイルス(注6)の封入体は液-液相分離(Liquid-liquid phase separation: LLPS)(注4)によって形成される液滴であることが知られています。そこで、MuVの封入体も液滴の性質があるかまず検討しました。電子顕微鏡観察の結果、MuVの封入体は非膜性の構造であり、またその内部は流動性が高いことから、他のモノネガウイルスの封入体と同様にMuVの封入体もLLPSによって形成される液滴であることがわかりました。

LLPSにはタンパク質や核酸の多価相互作用が重要であることが知られています。そこで、Photo-isolation chemistry(PIC)(注5)を用いて、MuVの封入体に取り込まれる宿主RNAを探索しました。PICでは光開裂性ブロッカーを付加した逆転写プライマーを使用することで、紫外線を照射した領域特異的な逆転写反応を行うことが可能となり、サンプル内の特定の領域のRNA情報を得ることができます(図1)。このPICによる空間的トランスクリプトーム解析の結果、MuVの封入体にはGC含量(注7)が高いRNAが多く含まれることが示されました。GC含量が高いRNAの特徴として、様々な高次構造を取ることが知られています。その中でもグアニン四重鎖(G4)構造(注3)を持つRNA(G4 RNA)はLLPSにおける足場の役割を果たすことがあり、MuVの封入体にもG4 RNAが蓄積することが間接蛍光抗体法で観察されました(図2)。

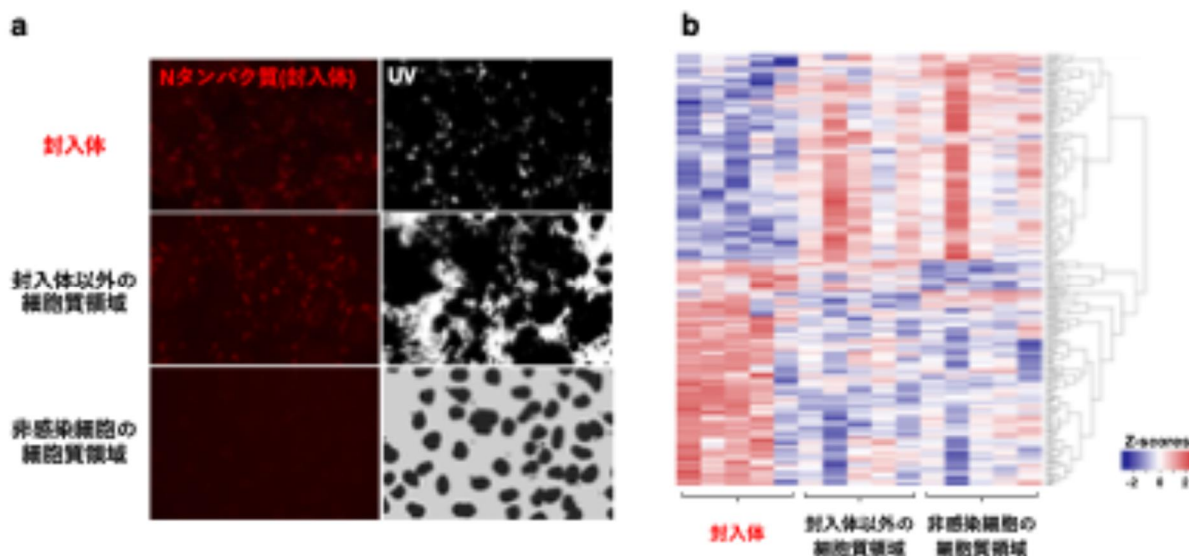


図1: PICによる封入体にリクルートされるRNAの探索

- 蛍光染色を参考に紫外線(UV)を封入体、封入体以外の細胞質領域または非感染細胞の細胞質領域に照射して、それぞれに含まれるRNAを次世代シーケンサーで同定した。
- トランスクリプトーム解析の結果、封入体では特徴的なRNAパターンが認められた。

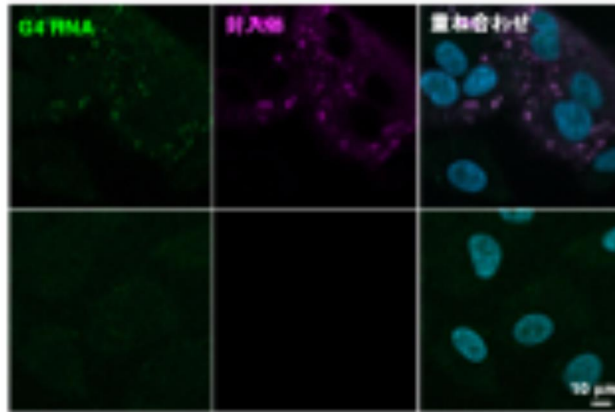


図 2 : MuV 封入体への G4 RNA の蓄積
MuVの封入体にG4 RNAが検出される。

最後にMuVの封入体形成においてG4 RNAの役割について検討しました。ウイルスタンパク質の中でPhosphoprotein (Pタンパク質)が封入体形成に中心的な役割を担います。そこで精製Pタンパク質を用いた試験管内の液滴形成によって、G4 RNAの機能を解析しました。その結果、Pタンパク質が作る液滴に、封入体で多く検出されたRNAであるMRPS34のメッセージーRNA (mRNA)を人工合成して添加すると、液滴内のPタンパク質の濃縮度が高まることが示されました (図3)。

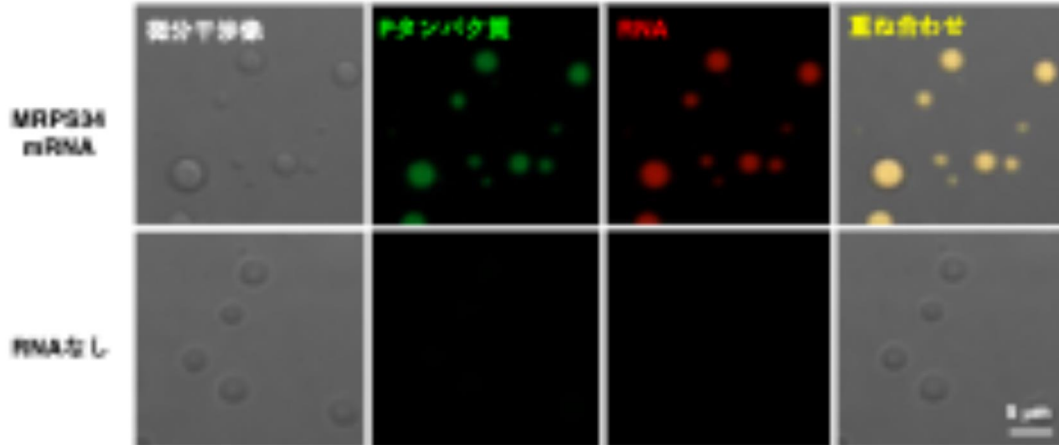


図 3 : G4 RNA による分子濃縮増強

Pタンパク質によって形成される液滴(微分干渉像)にG4 RNA (MRPS34 mRNA)を添加すると、RNAが液滴に取り込まれると共に、液滴内部のPタンパク質量も増加する。

封入体を形成することで、ウイルスはRNA合成に必要な因子を集積・濃縮し、効率よくウイルスRNAの合成を行うことができると考えられます。封入体形成はMuV感染だけでなく、幅広いモノネガウイルス感染で見られる共通のRNA合成戦略機構です。本研究で明らかになった液滴内部の分子濃縮を高めるために宿主のG4 RNAを利用するという機構は、RNAウイルスの増殖機構を理解するための重要な知見を提供すると考えられます。

発表者・研究者等情報

東京大学大学院医学系研究科・医学部 微生物学教室

竹田 誠 教授

加藤 大志 准教授

赤堀 ゆきこ 助教

北井 優貴 助教

細木 美香 技術補佐員

松岡 康平 学部学生

論文情報

雑誌名 : Science Advances

題名 : Structural and molecular properties of mumps virus inclusion bodies

著者名 : Hiroshi Katoh*, Ryuichi Kimura, Tsuyoshi Sekizuka, Kohei Matsuoka, Mika Hosogi, Yuki Kitai, Yukiko Akahori, Fumihiro Kato, Michiyo Kataoka, Hirotaka Kobayashi, Noriyo Nagata, Tadaki Suzuki, Yasuyuki Ohkawa, Shinya Oki, Makoto Takeda
(*責任著者)

DOI: 10.1126/sciadv.adr0359

研究助成

本研究は、科研費「基盤研究(C) (課題番号: 22K07108、代表: 加藤大志)」、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)「革新的先端研究開発支援事業 (革新的リバーシブルジェネティクスを駆使した新たなウイルス学研究所の創出)、分担研究者: 加藤大志)」、「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業 (ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点群 東京フラッグシップキャンパス (東京大学新世代感染症センター)、研究協力者: 竹田誠)」、公益財団法人シオノギ感染症研究振興財団「次世代育成支援研究助成金、代表: 加藤大志」、公益財団法人武田科学振興財団「ハイリスク新興感染症研究助成、代表: 加藤大志」、科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業「ACT-X(課題番号: JPMJAX2329、代表: 木村龍一)」の支援により実施されました。

用語解説

(注1) おたふくかぜウイルス (Mumps virus: MuV)

パラミクソウイルス科オルソブラウイルス属に分類される RNA ウイルス。飛沫などによって伝搬し、おたふくかぜ(流行性耳下腺炎)を引き起こす。

(注2) 封入体

モノネガウイルス感染細胞で見られる非膜性の構造体。LLPS によって形成される液滴で、ウイルス RNA 合成の場と考えられている。

(注3) グアニン四重鎖構造

グアニン含量の多い DNA および RNA において形成される高次構造。遺伝子の発現制御など様々な生命現象に関わることが知られている。

(注4) 液-液相分離 (Liquid-liquid phase separation: LLPS)

タンパク質や RNA といった高分子間の多加相互作用により、溶液中に異なる液相が分かれて存在する現象。LLPS に形成される液滴は動的であり、内外の物質が交換される。

(注5) Photo-isolation chemistry (PIC)

目的の細胞集団や微小组織に光を照射し、そこに発現する遺伝子を網羅的に検出する空間的トランスクリプトーム手法。

(注6) モノネガウイルス

非分節のマイナス鎖の RNA をゲノムとするウイルス。おたふくかぜウイルスの他に麻疹ウイルス、RS ウイルス、狂犬病ウイルス、エボラウイルスなど医学・獣医学上重要なウイルスが多く含まれる。

(注7) GC 含量

RNA を構成する 4 種類の塩基(アデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、ウラシル(U))のうち、グアニンとシトシンが占める割合。

問合せ先

(研究内容については発表者にお問合せください)

東京大学大学院医学系研究科

准教授 加藤 大志 (かとう ひろし)

Tel : 03-5841-3404 E-mail : hirokato@m.u-tokyo.ac.jp

東京大学大学院医学系研究科 総務チーム

Tel : 03-5841-3304 E-mail : ishomu@m.u-tokyo.ac.jp