

細胞レベルでのHTLV-I感染メカニズムの研究

平松啓一, 角淳一郎

要約 HTLV-Iの宿主細胞染色体DNAへの組み込みのメカニズムを探るために、組み込みの前駆体であると想定されている2LTRをもった核外環状遺伝子をクローン化し、そのLTR連結部の塩基配列を決定した。その結果は、2LTR環状DNAが従来考えられていたものと異なる由来を持っていることを示唆した。

見出し語：PCR、LTR、核外遺伝子

研究方法 成人T細胞白血病の患者より末梢血リンパ球を精製し、培養細胞株、catS+L-細胞と混合培養し、一週間後に、Hirtの方法により核外遺伝子を抽出した。さらに、Ethidium bromide Cs-Cl 超遠心により環状DNAを精製した。予め合成しておいた、U5の+strandの5'末端に相当するoligonucleotideと、U3の-strandの3'末端に相当するoligonucleotideをプライマーとして、この環状DNAを鋳型として2LTR連結部をPCR法により増幅した。これをSau3AI, NdeIで切断し、PUC18, PUC19ベクターにクローン化した。塩基配列の決定はdideoxy法によった。

結果 2LTR結合部の塩基配列は以下のようであった。

clone	U5	J	U3
1.	AAAT-----		GATGACAATGAC
2.	AAATTTAGTACACAGTGG		GATGACAATGAC
3.	AAATTTAGTACACAGT		--TGACAATGAC
4.	AAATTTAGTACACAGT		GATGACAATGAC
5.	AAATTTAGTACACAGT		GATGACAATGAC
6.	AAATTTAGTACACAGT		GATGACAATGAC
7.	AAATTTAGTACACA--		-----
8.	AAATTTAGTACACA--		GATGACAATGAC
9.	AAATTTAGTACACAGT		--TGACCATGAX
10.	AAATTTAGTACACA--		GATGACAATGAC
11.	-----		--TGACAATGAC
12.	AAATTTAGTACACAGT		GATGACAATGAC
13.	AAATTTAGTACACAGT		GATGACAATGAC
14.	AAATTTAGTACACA--		GATGACAATGAC

順天堂大学医学部細菌
(Dept. of Bacteriology, Juntendo Univ.)

15. AAATTTAGTACACAGT -----

- : deletion

x : undetermined

J : junction

考察 15個のクローンの2LTR結合部の塩基配列を調べた結果、5クローン(4,5,6,12,13)は、従来考えられていたようにLTR間のhead-to-tailの連結であった。しかし、クローン2は結合部に1塩基の挿入があり、その他のクローンはU5側またはU3側にゲノムの欠失が認められた。このことからHTLV-

Iの核外遺伝子のLTR末端部は極めてheterogeneousであることがわかった。このLTR末端の塩基配列は、レトロウイルスの宿主染色体への組み込みに重要な配列と考えられているので、この実験結果はHTLV-Iのin vitroでの感染力の低さ(文献を参照)と関係していると考えられる。

文献 Mode of transmission of human T cell leukemia virus type I (HTLV-I) in a human promyelocytic leukemia HL60 cell. K. Hiramatsu, et al. Int. J. Cancer 37, 601-606 (1986)



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約 HTLV - 1 の宿主細胞染色体 DNA への組み込みのメカニズムを探るために、組み込みの前駆体であると想定されている 2LTR をもった核外環状遺伝子をクローン化し、その LTR 連結部の塩基配列を決定した。その結果は、2LTR 環状 DNA が従来考えられていたものと異なる由来を持っていることを示唆した。