

Title	Specific Interaction of a 25-kilodalton Cellular Protein, a 40S Ribosomal Subunit Protein, with the Internal Ribosome Entry Site of Hepatitis C Virus Genome
Author(s)	福士, 秀悦
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42751
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"＞ 大阪大学の博士論文について ＜/a＞ をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	福 士 秀 悦 ふく し しゅう えつ
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 5 6 9 1 号
学位授与年月日	平成 12 年 8 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Specific Interaction of a 25-kilodalton Cellular Protein, a 40S Ribosomal Subunit Protein, with the Internal Ribosome Entry Site of Hepatitis C Virus Genome (C型肝炎ウイルスの Internal Ribosome Entry Site と 40S リボソームサブユニット蛋白質の一つである 25KDa 宿主細胞蛋白質との特異的結合)
論文審査委員	(主査) 教授 永井 克也 (副査) 教授 山西 弘一 教授 林 紀夫

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

C型肝炎ウイルス (HCV) はゲノムの5'非翻訳領域 (NCR) 内に Internal Ribosome Entry Site (IRES) とよばれる構造をもつ。一般に真核生物の mRNA は cap 依存的翻訳開始機構によって蛋白質合成が行われる。しかし、HCV ゲノム RNA からの蛋白質合成は、リボソームが IRES を認識して入り込むことにより開始される。このような内部認識機構は同じプラス一本鎖 RNA ウイルスである、ポリオウイルス (PV) や脳心筋炎ウイルス (EMCV) などのピコルナウイルス科にも認められる。ピコルナウイルスではリボソームが IRES に結合し翻訳開始複合体を形成するためには eIF-2, PTB, La などの宿主細胞蛋白質が必要であることが明らかにされている。一方、HCV の IRES は塩基配列や RNA の二次構造がピコルナウイルスとは異なる特徴を有することから、そこに結合する宿主細胞蛋白質をはじめ、それらによって形成される翻訳開始複合体、リボソームの HCV IRES 認識機構など不明な点が多い。私は、これまでに HCV 5' NCR の欠失変異体と試験管内翻訳系を用いて IRES の機能に必須なゲノム RNA の領域を明らかにしてきた。さらに、HCV IRES による翻訳に中心的な役割を果たす、IRES 結合宿主細胞蛋白質 p25 を発見した。本研究では、p25 が結合するために必要な HCV の IRES 領域を決定するとともに p25 の性質について検討した。

[方法ならびに成績]

[³²P]UTP でラベルされた HCV 5' NCR 全長をふくむ RNA を HeLa 細胞質抽出液とインキュベートし、UV 照射 (UV クロスリンク) を行い、SDS-PAGE 後オートラジオグラフィーで p25 を検出した。p25 が HCV 5' NCR のどの部分に結合するか調べるために、HCV 5' NCR の様々な欠失変異体を作製し、HCV 5' NCR と p25 の UV クロスリンクの競合 RNA として用いた。HCV 5' NCR のうち nt 47-74 あるいは nt 279-331 を欠いた競合 RNA は HCV と p25 の結合を阻害しなかったことから、これらの領域が p25 の結合に必須であることが分かった。これらの領域は HCV の翻訳に重要な役割を果たすことが試験管内翻訳系で明らかにされており、さらに HCV のすべての strain でほぼ完全に保存されていることから、HCV の増殖に重要な部分であると考えられた。一方、PV および、EMCV などのピコルナウイルスの IRES は HCV と p25 の結合を競合阻害しなかったことから、これらのウイルスでは p25 は結合せず、p25-IRES の相互作用は HCV に特異的であると考えられた。

HeLa 細胞質抽出液の代わりに、精製した 40S リボソームサブユニットを UV クロスリンクに用いた場合でも

HCV 5' NCR と p25 の結合が見られたことから、p25 は 40S リボソームサブユニット蛋白質の一つであることが明らかになった。また、ほかの宿主因子を介さずに HCV 5' NCR と 40S リボソームはダイレクトに結合しうることが分かった。p25 との結合は、HeLa 細胞のみならず、HCV の増殖が報告されている MT-2, MOLT-4, Daudi 細胞でも見られた。

[総括]

HCV が感染細胞内で増殖するためには、5' NCR に形成される IRES と相互作用する宿主細胞蛋白質が重要な役割を果たす。そのなかの一つである p25 は HCV 5' NCR のうち、nt47-74 および nt279-331 を含む部分に結合することが明らかになった。この領域は HCV の増殖に必須と思われる部分であった。p25 は 40S リボソームサブユニット蛋白質の一つであり、p25 と IRES の結合はピコルナウイルスにみられず、HCV 特異的であった。これらの結果から、p25 との結合による 40S リボソームサブユニットと IRES のダイレクトな相互作用が HCV の翻訳に重要なステップであり、これまでに知られているピコルナウイルスとは異なるメカニズムで HCV の IRES が機能すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

C型肝炎ウイルス (HCV) ゲノムの 5' 非翻訳領域 (5' NCR) には Internal Ribosome Entry Site (IRES) が形成され、この部分と宿主細胞側蛋白質の相互作用によってウイルス蛋白質の合成が開始されると考えられている。

本研究では分子量約 25kDa の宿主細胞側蛋白質 (p25) の結合が IRES による HCV 蛋白質合成に必須であることを見だし、その 5' NCR における結合領域を決定した。更に、p25 を精製し、アミノ酸配列を解析して p25 は 40S リボソームサブユニットに含まれる蛋白質 (S5 蛋白質) であることも明らかにした。また、40S リボソームサブユニットが p25 (S5) を介して HCV ゲノムの 5' 非翻訳領域 (IRES) に直接結合することを示す結果を得た。p25 と IRES の結合は HCV に特異的であることから、本研究はこれまで知られているポリオウイルスなどの IRES とは異なるメカニズムで HCV IRES が働くことをウイルス学的に検証したものである。このように、本研究は HCV の増殖に必須なウイルス蛋白質合成の分子機構の理解に新知見を与え、C型肝炎の治療における新たな方策を与える可能性があるため、学位に値すると考える。