

Title	Structure of Transcripts and Proteins Encoded by U79-80 of Human Herpesvirus 6 and Its Subcellular Localization in Infected Cells
Author(s)	谷口, 友邦
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43230">https://hdl.handle.net/11094/43230</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</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	谷口友邦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16670 号
学位授与年月日	平成14年3月8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	Structure of Transcripts and Proteins Encoded by U79-80 of Human Herpesvirus 6 and Its Subcellular Localization in Infected Cells (ヒト・ヘルペスウイルス6のU79-80遺伝子がコードする転写産物と蛋白質の構造及びそれらの感染細胞内での局在について)
論文審査委員	(主査) 教授 山西 弘一  (副査) 教授 生田 和良 教授 松浦 善治

## 論文内容の要旨

## 【目的】

ヒトヘルペスウイルス6 (以下、HHV-6) は、1986年に Salahuddin らによってリンパ球系疾患患者よりはじめて分離され、1988年山西らによって突発性発疹の原因ウイルスであることが明らかにされたヒトヘルペスウイルスである。更に、HHV-6はそのウイルス学的性状や遺伝子の塩基配列等から、variantA (HHV-6A) と variantB (HHV-6B) に分類されている。

HHV-6は、ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) 及びヒトヘルペスウイルス7 (HHV-7) とともにβヘルペスウイルス亜科に分類される。これらのウイルスの全塩基配列は既に明らかとなっており、βヘルペスウイルスのコードする遺伝子群の構造は一部の遺伝子群を除いて、互いに相同性が高いことが知られている。しかし、これらのウイルス蛋白質の構造や機能に関しては不明なものが多い。

HHV-6のU79-80遺伝子は、遺伝子構成上はHCMVのUL112-113遺伝子の位置的ホモログと考えられているが、その予想されるアミノ酸配列は各βヘルペスウイルス間で非常に異なっており、HHV-6AとHHV-6Bのvariant間においても他の遺伝子に比べて相同性は低い。

そこで、我々はHHV-6BのU79-80遺伝子がコードするmRNA及び蛋白質の構造を明らかにし、そのウイルス学的機能に付いて検討することを目的とした。

## 【方法ならびに成績】

HHV-6感染細胞より poly A<sup>+</sup> RNA を調製し cDNA Library を作製した。U79領域をコードする HHV-6 のゲノム DNA 断片をプローブとして cDNA Library をスクリーニングし、約100個の陽性クローンを得た。これらの cDNA クローンの塩基配列を決定することにより U79-80遺伝子から転写される mRNA の構造を決定した。更に、これらの mRNA の転写開始点は 5' -RACE 法により確認した。その結果、U79-80領域からは、4種類の mRNA が転写されることが明らかとなった。これらの mRNA は3個のイントロンをもち5'側は共通であるが3箇所目のスプライシング部位で alternative splicing を起こし、3'側のコード領域のアミノ酸配列が異なっていた。

これらの mRNA がコードするウイルス蛋白質を同定するため、共通部分の133個のアミノ酸に対するウサギ抗体を作製した。この抗体を用いて、HHV-6感染細胞及びそれぞれの構造をもつ cDNA 発現ベクターをトランスフェクトした細胞から免疫沈降法により抗原を検出した。ウイルス感染細胞では4種類の蛋白質が検出され、トランスフェ

クトした細胞からはそれぞれの cDNA に対応した蛋白質が検出された事から、U79-80 遺伝子には 4 種類のウイルス蛋白質がコードされていることが明らかとなった。また、蛍光抗体法等によりその細胞内での局在を検討したところ、これらの蛋白質は細胞核内にドット状に検出された。

次に U79-80 遺伝子にコードされている蛋白質のウイルス学的な性質について検討した。RT-PCR で U79-80 mRNA の発現を検討したところ、HHV-6 感染 3 時間後から発現が認められ、cycloheximide (CHX) 及び phosphonoformate (PFA) 存在下でも発現が認められた。また、U79-80 蛋白質は感染 8 時間後から認められ、PFA 存在下でも認められたが、CHX 存在下では認められなかった。このことから、U79-80 遺伝子は、前初期或いは初期抗原に属することが判明した。

U79-80 蛋白質の機能に付いて検討するため、感染細胞内での他のウイルス蛋白質及び細胞蛋白質との相互作用について検討した。U79-80 蛋白質は、ウイルス DNA 複製装置を構成する蛋白質 [U27 (DNA polymerase processivity factor) 及び U41 (major DNA binding protein)] と co-localize し、更に、細胞側のウイルス DNA 複製の場を提供すると考えられている ND-10 領域の近傍に局在することが明らかとなった。

これらの結果から、HHV-6 の U79-80 遺伝子にコードされる蛋白質は、ウイルス DNA の複製に関与していることが示唆された。

#### 【総括】

HHV-6 の U79-80 遺伝子にコードされる蛋白質は、他の  $\beta$  ヘルペスウイルスの位置的相同遺伝子とアミノ酸レベルでの相同性が、他の遺伝子群に比較して低く、その構造や機能に付いても不明であった。一方、HCMV の位置的相同遺伝子である UL112-113 遺伝子については以前からウイルス DNA 複製に関与することが示唆されていた。今回の研究により、HHV-6 の U79-80 遺伝子は UI112-113 遺伝子とアミノ酸レベルでの相同性は低いにも関わらずウイルス DNA 複製に関与することから、HCMV の UL112-113 遺伝子の機能的相同遺伝子であることが明らかとなった。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、ヒトヘルペスウイルス 6 (human herpesvirus 6 ; HHV-6) の U79-80 遺伝子がコードしている蛋白質の構造及び機能を解析した論文である。HHV-6 は、突発性発疹の原因ウイルスであり、主にリンパ球で感染増殖する。ほとんどのヒトが幼児期に感染し、その後は宿主に潜伏感染していると考えられているが、AIDS、白血病や移植患者等の免疫抑制状態で再活性化を起こすことが知られている。また、HHV-6 の U79-80 遺伝子は、ヒトサイトメガロウイルスの UL112-113 遺伝子の位置的相同遺伝子と考えられているが、そのアミノ酸レベルでのホモロジーは他の遺伝子群に比べて低いことが報告されている。

本研究では、HHV-6 の U79-80 遺伝子からは alternative splicing により 4 種類の蛋白質が発現すること、これらの蛋白質はウイルス感染後、初期に発現し細胞核にドット状に局在することを明らかにした。さらに、U79-80 遺伝子産物は感染細胞核内においてウイルス DNA 複製関連蛋白質と共局在を示すことを見出した。これらの結果は、HHV-6 の増殖過程において、U79-80 遺伝子産物がウイルス DNA 複製に関与している可能性を示すという新しい知見を提供し、学位の授与に値すると思われる。