

Title	Establishment of a system for finding inhibitors of ε RNA-binding with the HBV polymerase
Author(s)	劉, 篠泉
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/77565
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	Liu Xiao Quan
論文題名 Title	Establishment of a system for finding inhibitors of ϵ RNA-binding with the HBV polymerase (HBV ポリメラーゼと ϵ RNAの結合阻害剤探索システムの確立)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 Although several nucleo(s) tide analogs are available for treatment of HBV infection, long-term treatment with these drugs can lead to the emergence of drug-resistant viruses. Recent HIV-1 studies suggest that combination therapies using nucleo(s) tide reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) and non-nucleo(s) tide reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) could drastically inhibit the viral genome replication of NRTI-resistant viruses. In order to carry out such combinational therapy against HBV, several new NRTIs and NNRTIs should be developed. Here, we aimed to identify novel NNRTIs targeting the HBV polymerase terminal protein (TP)-reverse transcriptase (RT) (TP-RT) domain, which is a critical domain for HBV replication. 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 We expressed and purified the HBV TP-RT with high purity using an <i>E. coli</i> expression system and established an in vitro epsilon RNA-binding assay system. Then, we used TP-RT in cell-free assays to screen candidate inhibitors from a chemical compound library, and identified two compounds, 6-hydroxy-DLDOPA and N-oleoyldopamine, which inhibited the binding of epsilon RNA with the HBV polymerase. Furthermore, these drugs reduced HBV DNA levels in cell-based assays as well by inhibiting packaging of pregenome RNA into capsids. The novel screening system developed herein should open a new pathway the discovery of drugs targeting the HBV TP-RT domain to treat HBV infection. 〔総 括(Conclusion)〕 We successfully purified HBV polymerase TP-spacer-RT domain expressed in <i>E. coli</i> with high purity and established a system to find new compounds or chemicals to inhibit binding of TP-spacer-RT with a packaging signal of epsilon RNA. We found two compounds; DL-DOPA and OLDA to inhibit pgRNA packaging into the capsids followed by HBV genome replication with the assay system. Although these chemicals would not be applied for clinical use directly, our system should be very useful to explore new anti-HBV agents in terms of packaging inhibitors.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) Liu Xiao Quan

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 仁田 啓次
	副 査	大阪大学教授 松浦 善治
	副 査	大阪大学教授 堀田 達也

論文審査の結果の要旨

本論文では、B型肝炎ウイルス (HBV) ポリメラーゼ (HBVpol) の末端タンパク-逆転写酵素ドメイン (TP-spacer-RT) の大腸菌を用いた大量発現・精製に成功し、その精製タンパクを用いて、HBV パッケージングシグナル (ϵ) との結合活性を測るシステムを開発した。

これまで、培養細胞を用いてHBVpolを発現し、 ϵ との結合活性を検討した報告はあったが、 ϵ との結合に必要な十分な領域であるTP-spacer-RTを大腸菌などの微生物系で大量発現し、極めて純度の高い標品を得たという報告はなく、世界で初めての報告である。また、標品を用いての ϵ 結合測定系の樹立は、それを阻害する化合物の探索を可能にした。

実際、二つの化合物 ; 6-hydroxy-DL-DOPA (DL-DOPA) and N-oleoyldopamine (OLDA) がHBVのプレゲノムRNA (pgRNA) のパッケージングを阻害し、HBVの増幅を抑えることが示された。特にOLDAについては、surface plasmon resonance (SPR) より、特異的にTP-spacer-RTと結合して、pgRNAのパッケージングを阻害することが示されている。

以上の如く、本報告は、今後の新規抗HBV剤の探索・開発へ向けて、これまでとは作用機序の全く異なった薬剤の開発につながるものと確信されものであり、学位授与に値するものである。