



Involvement of ribosomal protein L17 and Y-Box binding protein 1 in assembly of hepatitis C virus potentially via their interaction with the 3' untranslated region of the viral genome

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2024-10-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Liu, Jie メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/0002000241

論文審査の結果の要旨

C型肝炎ウイルス（HCV）感染は、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌の主な原因である。申請者の研究室では HCV ゲノムの 3'非翻訳領域（UTR）の 3'末端側（3'X 領域）がそのヌクレオキャプシドへのパッケージングに重要であるという知見をこれまでに得ているため、今回、さらにその機構の詳細を明らかにするための研究を行った。

ヒト肝細胞癌細胞株 Huh7.5.1 を用いたプロテオーム解析により、3'X 領域を含む 3'UTR には結合するが、3'X を欠く配列には結合しない宿主細胞タンパク質が同定された。さらに、これらに対し siRNA を介した遺伝子サイレンシングを行うことで、RNA 結合タンパク質であるリボソームタンパク質 L17（RPL17）と Y-box 結合タンパク質 1（YBX1）が、ウイルス感染細胞において感染性 HCV 粒子の効率的な産生を促進することが示された。次に、HCV のライフサイクルのさまざまな段階（細胞内へのウイルス侵入、翻訳、RNA 複製、粒子形成）を区別する 4 種類のアッセイを行ったところ、複製欠損サブゲノム RNA を用いたトランスパッケージングアッセイで、RPL17 と YBX1 はウイルス粒子形成に最も重要であることが示された。*in vitro* 因子を用いたアルファスクリーンアッセイでは、RPL17 と YBX1 は 3'UTR RNA に結合し、3'X 領域を欠失させるとサブゲノム RNA との相互作用が減弱することが示された。また、RNA-免疫沈降アッセイで、サブゲノム RNA との相互作用に重要な RPL17 と YBX1 のドメインが示されるとともに、RPL17 または YBX1 をノックダウンすると、ウイルスコアと共沈する HCV RNA の量が減少することも示された。そこで、HCV に感染した細胞を顕微鏡で観察すると、ウイルスコアは二本鎖 RNA と共局在しており、また、RPL17 と YBX1 もそこに共局在していた。最後に、RPL17 と YBX1 をノックダウンすると、共焦点イメージングでコアと二本鎖 RNA の相対的な空間距離が増加した。以上のことから、RPL17 と YBX1 は、HCV ゲノムの 3'UTR に結合し、これとコアタンパク質との相互作用に正の効果を及ぼし、それによりウイルスゲノムのヌクレオキャプシドへの効率的なパッケージングに寄与していると結論付けられた。

審査委員会では、本研究により HCV ゲノムのヌクレオキャプシドへのパッケージングにおいて RPL17 と YBX1 が関わる新たな重要な機構が明らかにされた点を高く評価した。以上により、本論文は博士（医学）の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者

主査 新村 和也

副査 才津 浩智 副査 小杉 伊三夫