



Cell type diversity in hepatitis B virus RNA splicing and its regulation

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2019-05-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 伊藤, 徳臣 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003538

論文審査の結果の要旨

B型肝炎ウイルス（HBV）では 3.5 kb の複製中間体 pregenomic (pg) RNA からの逆転写を経て genome DNA が複製される。pgRNA の一部は splicing されるが、その生物学的意義や制御機構はほとんど明らかではない。申請者らは pgRNA の細胞種依存性および splicing 制御機構の解明を目的とした。

pgRNA splicing の細胞種依存性に関与するシスエレメントを探索するために、細胞種に依らず splicing 効率が高い SV40 後期遺伝子と HBV の intron または exon を相互に置換したキメラ遺伝子を作製した。そして、HBV intron の部分欠損体を作製した。作製したプラスミドをヒトおよびマウス肝細胞がん株とヒト非肝細胞がん株などの培養細胞に導入し、ノザンブロッティング、定性 RT-PCR および定量 RT-PCR を行い、pgRNA splicing 効率を解析した。

ヒト肝細胞がん株では他の細胞株に比べ、pgRNA splicing 効率が高いことが示された。HBV intron を SV40 intron に置換すると、ヒト肝細胞がん株においてのみ pgRNA splicing 効率が上昇し、一方、SV40 intron を HBV intron に置換すると、どの細胞種においても SV40 splicing 効率が低下することが示された。これらの結果から、pgRNA には細胞種非依存的な intronic splicing silencer (ISS) と肝細胞選択的 exonic splicing enhancer が存在することが示唆された。そして、HBV intron の部分欠損体を作製したところ、intron 中央部の約 400 塩基の中に 50-nt の新規 ISS を同定し、その ISS の二次構造は HBV 遺伝子型間（A から D）で良く保存されていることが示された。さらに、新規 ISS を含む 795 塩基の intron が、HBV 遺伝子型による pgRNA splicing 効率の違いに関与する可能性が示唆された。

審査委員会は、HBV の pgRNA splicing に関与する新規 ISS を初めて報告し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 岩下 寿秀

副査 前川 真人

副査 永田 年