HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Development and use of a kinetical and real-time monitoring system to analyze the replication of hepatitis C virus

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2022-10-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Li, Xiaoyu メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00004188

論文審査の結果の要旨

ウイルス学などの微生物学研究では、病原体のライフサイクルの時間的変化を理解することは重要である。培養細胞のライセートなどを経時的に採取し、ウイルス遺伝子産物やレポーター活性を分析することで、ライフサイクルの時間的変化の解析が行われてきたが、翻訳・複製を連続的に解析することは困難であった。本研究では、高感度発光検出器を用いて、リアルタイムモニタリングシステムを開発し、C 型肝炎ウイルス（HCV）の複製を解析した。

HCV の 5'-、3'-非コード領域および非構造 NS3-NS5B 領域の cDNA とルシフェラーゼ遺伝子を有するプラスミドから合成されたレプリコン RNA を HuH-7 肝細胞に導入し、D-ルシフェリンを含む培地で培養し、Kronos Dio Luminometer を用いて発光を 10 日間、30 分ごとに記録した。

HuH-7 細胞への RNA 導入から 3-20 時間後に一過性翻訳が見られ、その後、複製が開始することが示された。翻訳と複製の初速を算出し、翻訳効率と複製効率のカイネティクスグラフを作成したところ、翻訳効率と複製効率は HuH-7 サブクローン間で異なり、サブクローン間で翻訳・複製支援能力が異なることが示唆された。また、HCV の genotype 間でも翻訳効率と複製効率が異なることが明らかになった。HCV の RNA の翻訳および複製に関与する miR-122 の結合部位への変異は、翻訳よりも複製活性を低下させることが示された。さらに、このシステムを使用することにより、抗 HCV 阻害薬の作用点が明確になり、新規抗 HCV 阻害薬の探索にも有用であることが示唆された。

HCV 複製リアルタイムモニタリングシステムを開発することによって、HCV のライフサイクルの詳細な時間的変化の解析が可能となったことを審査委員会では高く評価した。

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　須田　隆文　　副査　永田　年