

## ヒトB型肝炎ウイルスX蛋白による転写装置の修飾

|       |   |
|-------|---|
| 著者    | 村上 清史   |
| 著者別表示 | Murakami Seishi   |
| 雑誌名   | 平成10(1998)年度 科学研究費補助金 国際学術研究<br>研究成果報告書   |
| 巻     | 1997-1998   |
| ページ   | 11p.  |
| 発行年   | 1999-03   |
| URL   | <a href="http://doi.org/10.24517/00050058">http://doi.org/10.24517/00050058</a> |



ヒトB型肝炎ウイルスX蛋白による  
転写装置の修飾

研究課題番号 09044278

平成9-10年度科学研究費補助金（国際学術共同研究）  
研究成果報告書

平成11年3月

研究代表者 村上清史  
(金沢大学がん研究所教授)

金沢大学附属図書館



8000-73485-0

KAI  
12/28  
2

## は し が き

### 研究組織

研究代表者 村上清史 (金沢大学がん研究所腫瘍分子科学)  
研究分担者 Robert Roeder (Laboratory Biochem. Molecular Biology  
Rockefeller University, USA)  
研究分担者 野村孝弘 (金沢大学がん研究所腫瘍分子科学)  
研究分担者 林 直之 (金沢大学がん研究所腫瘍分子科学)  
(研究協力者 Yong Lin 金沢大学大学院医学研究科大学院生)  
(研究協力者 Dorjbal Dorjsuren 金沢大学大学院医学研究科大学院生)

### 研究経費

平成 9年度 4,000 千円  
平成10年度 2,800 千円

### 研究のまとめ

RNA ポリメラーゼサブユニット RPB5 が HBV X 蛋白(HBx)と結合し、HBx のトランス活性化に関わる結果(EMBO. J., '95)を基に、HBx による転写装置の修飾機構を検討した。本研究は転写装置と直接相互作用して転写を正又は負に修飾する転写制御の新しい局面を明らかにする研究である。得られた成果は、1) 転写基本因子 TFIIB が RPB5 と HBx に共に相互作用することを見い出し、3 者間の相互作用領域が HBx によるトランス活性化に必要であることを確認した(J. Biol. Chem., '97)。2) 人為的プロモータを用いた in vitro 及び in vivo 転写系で、HBx は転写活性化能を示さず、転写補助因子能(Coactivator)を示し、種々の異なった転写活性化系に Coactivator として機能した(J. Biol. Chem., '98)。3) RPB5 結合蛋白が HBx の機能修飾と拮抗することを想定して、RPB5 結合蛋白 cDNA の単離を行い、新規の RMP(RPB5-mediating protein)を同定した(Mol. Cell. Biol., '98)。RMP は、TBP や HBx との結合能を示さず、RPB5 と特異的に結合した。RMP の過剰発現は HBx トランス活性化に拮抗し、HBx 非存在下で活性化転写を抑制する Corepressor 活性を示した。これらの RMP の転写抑制効果には、RPB5 結合領域が必須であった。これらの結果は、RMP が HBx と機能的な拮抗因子であることを示唆した。4) p53 と HBx の結合と X トランス活性化との関連を検討し、p53 と HBx との結合は p53 及び HBx のトランス活性化を干渉するが、X トランス活性化と p53 結合性とは区別されることを報告した(Cancer Res., '97)。

## 研究発表

### (1) 学会誌等

1. Lin, Y., Nomura, T., Cheong, JH., Dorjsuren, D., Iida, K., Murakami, S.(1997) Delineation of interaction sites of Hepatitis B virus X protein and tumor suppressor p53. in *Viral Hepatitis and Liver Disease*, ed. by Rizzeto et al. in press.
2. Lin, Y., Nomura, T., Cheong, JH., Dorjsuren, D., Iida, K., Murakami, S.(1997) Hepatitis B virus X protein is a transcriptional modulator that communicates with transcription factor TFIIB and the RNA polymerase subunit RPB5. *J. Biol. Chem.*, 272:7132-7139.
3. Yi, MK., Nakamoto, Y., Kaneko, S., Yamashita, T., Murakami, S. (1997) Delineation of regions important for heteromeric association of hepatitis C virus E1 and E2. *Virol.*, 231:119-129.
4. H. Ohno, S. Kaneko, K. Kobayashi, S. Murakami (1997). Human hepatitis B virus enhancer 1 is responsive to human interleukin-6. *J. Med. Virol.* 52:413-418
5. MK.Yi, S. Kaneko, DY. Yu, S. Murakami. (1997) Hepatitis C virus envelope proteins bind lactoferrin. *J. Virol.*, 71:5997-6002.
6. H. Ohno, S. Kaneko, K. Kobayashi, S. Murakami(1997). Human hepatitis B virus enhancer 1 is responsive to human interleukin-6. *J. Med. Virol.* 52:413-418.
7. Seo JH, Kim KW, Murakami S, Park BC. Lack of colocalization of HBxAg and insulin like growth factor II in the livers of patients with chronic hepatitis B, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. (1997) *J Korean Med Sci.* 12(6): 523-531.
8. Y. Lin, T. Nomura, T. Yamashita, D. Dorjsuren, H. Tang, S. Murakami. (1997) The transactivation and p53-interaction functions of HBx are mutually interfering but distinct. *Cancer Res.*, 57:5137-5142.

9. 村上清史 (1997) CAT アッセイ法を用いた転写開始制御領域の解析法。  
肝・胆・膵, 35:791-799
10. 村上清史 (1997) メデカル用語ライブラリー：がん遺伝子 羊土社  
B型肝炎ウイルス X 蛋白 p110-111
11. T. Yamashita, S. Kaneko, Y. Shirota, W. Qin, T. Nomura, K. Kobayashi, S. Murakami. (1998) RNA-dependent RNA polymerase activity of the soluble recombinant Hepatitis C Virus NS5B protein truncated at the C-terminal region. *J. Biol. Chem.*, 273:15479-15486.
12. Y. Lin, H. Tang, T. Nomura, N. Hayashi, D. Dorjsuren, T. Ohta, R. Reoder, S. Murakami. (1998) The HBV X protein is a co-activator of activated transcription that modulates the transcription machinery and distal binding activators. *J. Biol. Chem.*, 273:27097-27103.
13. D. Dorjsuren, Y. Lin, WX. Wei, T. Yamashita, T. Nomura, N. Hayashi, S. Murakami. (1998) RMP, a novel RNA polymerase II subunit 5-interacting protein, counteracts transactivation by hepatitis B virus X protein. *Mol. Cell. Biol.*, 18:7546-7555.
14. DY., Yu1, HB. Moon, JK. Son, SK. Jeong, SL. Yu, H. Yoon, YM. Han, CS. Lee, JS. Park, CH. Lee, BH. Hyun, S. Murakami, KK. Lee (1999) Incidence of hepatocellular carcinoma in the transgenic mice expressing hepatitis B virus X-protein. *J. Hepatol.*, in press.
15. T. Nomura, Y. Ling, D. Dorjsuren, S. Ohno, T. Yamashita, S. Murakami. (1999) Human Hepatitis B virus X protein is detectable in nuclei of transfected cells, and active for transactivation. *Biochim. Biophys. Acta.* in press.
16. S. Murakami (1999) Hepatitis B Virus X Protein: Structure, Functions and Biological Roles. *Intervirolog.*, in press
17. 村上清史 (1999) B型肝炎ウイルス(HBV)の遺伝子制御 メディコピア、印刷中

(2) 口頭発表

Purification and properties of RNA-dependent RNA polymerase activity of purified bacterial recombinant Hepatitis C virus (HCV) NS5B.

T. Yamashita, Y. Shirota, W. Qin, S. Kaneko, K. Kobayashi, and S. Murakami.

Frontiers of RNA Virus Research, The Oji International Seminar in Natural Science 1997. Kyoto, Japan, from May 11 to 14, 1997.

Cloning and characterization of RPB5-mediating protein (RMP) which counteracts transactivation by hepatitis B virus X protein.

Dorjbal Dorjsuren, Yong Lin, Hong Tang, Takahiro Nomura, Naoyuki Hayashi, and Seishi Murakami at Mechanism of eukaryotic transcription. Aug. 27-31 Meeting at Cold Spring Harbor Laboratory.

HBV X protein is a co-activator that potentiates transcriptional activators.

Yong Lin, Hong Tang, Takahiro Nomura, Naoyuki Hayashi, Dorjbal Dorjsuren, Tsutomu Ohta and Seishi Murakami.

International meeting on molecular biology of Hepatitis B Viruses  
Sept. 22-25, 1997 at Pasteur Institute, France

RPB5-mediating protein, RMP, may counteract the HBx transactivation

Dorjbal Dorjsuren, Yong Lin, Hong Tang, Takahiro Nomura, Naoyuki Hayashi, Tsutomu Ohta and Seishi Murakami.

International meeting on molecular biology of Hepatitis B Viruses  
Sept. 22-25, 1997 at Pasteur Institute, France.

Properties of hepatitis C virus NS5B protein: RNA-dependent RNA polymerase activity and binding ability to NS5A.

Tatsuya Yamashita, Yukihiro Shirota and Seishi Murakami

International Symposium on Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma at 51th assembly of the Japanese Biochemical Society.

Sept. 23-25, 1997 at Kanazawa

C型肝炎ウイルス(HCV)E1, E2ヘテロ複合体形成領域の決定。

山下竜也、イミンキュン、金子周一、小林健一、村上清史

第51回日本生化学会、9月23-25日、於 金沢

B型肝炎ウイルス X 蛋白は TFIIB 及び RPB5 と共同して転写を活性化する  
Yong Lin, 林直之、野村孝弘、Hong Tang, Dorjbal Dorjsuren, 山下竜也、村  
上清史  
第 56 回日本癌学会総会、1997 年 9 月 25-28 日、京都

HCVNS5b 領域の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ活性(RdRP)の測定と NS5A  
への結合性。山下竜也、代田幸博、金子周一、小林健一、村上清史  
第 56 回日本癌学会総会、1997 年 9 月 25-28 日、京都

RNA ポリメラーゼサブユニット RPB5 に結合する新規蛋白の HBx への機能干  
渉。  
Dorjbal Dorjsuren, Lin Yong, 林直之、野村孝弘、村上清史  
第 56 回日本癌学会総会、1997 年 9 月 25-28 日、京都

C型肝炎ウイルス(HCV)表面蛋白 E1 と E2 とラクトフェリンとの結合  
村上清史、Yi Minkyung、金子周一 第 56 回日本癌学会総会、1997 年 9 月 2  
5-28 日、京都

HCV RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ、HCV NS5B 領域の RNA 結合性の検討  
代田幸博、山下竜也、金子周一、小林健一、村上清史  
第 56 回日本癌学会総会、1997 年 9 月 25-28 日、京都

C型肝炎ウイルス(HCV)表面蛋白 E1 と E2 とラクトフェリンとの結合  
村上清史、Yi Minkyung、金子周一 第 56 回日本癌学会総会、1997 年 9 月 2  
5-28 日、京都

B型肝炎ウイルス X タンパクは活性化因子と協同して in vivo 及び in vitro 転写  
系を活性化する。  
Yong Lin, Hong Tang, 林直之、野村孝弘、Dorjbal Dorjsuren, 大田力、村  
上清史  
第 20 回分子生物学会年会、1997 年 12 月 16 日-19 日、京都

B型肝炎ウイルス X 蛋白によるトランス活性化に拮抗する RPB5-mediating-  
protein (RMP)のクローニングと特性 Dorjbal Dorjsuren, Yong Lin, Hong  
Tang, 林直之、野村孝弘、村上清史 第 20 回分子生物学会年会、1997 年  
12 月 16 日-19 日、京都

導入遺伝子による機能性ヒト B 型肝炎ウイルス X 蛋白の発現と細胞内存在様式  
野村孝弘、Yong Lin, 山下竜也、代田幸博、大野真介、Dorjbal Dorjsuren, 村  
上清史 第 20 回分子生物学会年会、1997 年 12 月 16 日-19 日、京都

C 型肝炎ウイルス(HCV)表面蛋白とラクトフェリンとの相互作用  
村上清史、Yi Minkyung、金子周一 第 20 回分子生物学会年会、1997 年  
12 月 16 日-19 日、京都

C 型肝炎ウイルス RNA 依存 RNA 合成酵素の RNA 結合活性の解析  
Huang Zhi-Ming、代田幸博、山下竜也、Qin WeiPing、村上清史 第 20 回分  
子生物学会年会、1997 年 12 月 16 日-19 日、京都

HCV NS5A と NS5B の蛋白・蛋白相互作用に関する解析  
代田幸博、 山下竜也、Qin WeiPing、Huang Zhi-Ming、村上清史 第 20 回  
分子生物学会年会、1997 年 12 月 16 日-19 日、京都

HCV NS5B 領域の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ活性の測定と特性  
山下竜也、Qin WeiPing、代田幸博、 Huang Zhi-Ming、村上清史 第 20 回  
分子生物学会年会、1997 年 12 月 16 日-19 日、京都

Hepatitis B virus X protein (HBx) is a transcriptional modulator that  
communicates with transcription factor TFIIB and the RNA polymerase  
subunit RPB5  
リンヨン, 野村孝弘, ドルジバルドルジスレン, 村上清史 日本生化学会北陸  
支部第 15 回大会、1997,5,31

ラクトフェリンと C 型肝炎ウイルス(HCV)表面蛋白 E1 と E2 との結合  
村上清史、イ ミンキュン、金子周一 . 日本生化学会北陸支部第 15 回大会、  
1997,5,31

大腸菌系での C 型肝炎ウイルス(HCV)NS5B 蛋白の発現、精製と RNA 依存性  
RNA ポリメラーゼ(RdRP)活性  
山下竜也 代田幸博、チンウェイピン、イミンキュン、 リンヨン、ドルジバ  
ルドルジスレン、金子周一、小林健一、村上清史。 日本生化学会北陸支部第  
15 回大会、1997,5,31



TRANSACTIVATION OF HBV X PROTEIN MODULATES TRANSCRIPTIONAL MACHINERY: Yong Lin, Dorjbal Dorjsuren, Takahiro Nomura, Naoyuki Hayashi, Tsutomu Ohta, Robert Roeder and Seishi Murakami, at 5th Asian Congress of Transcription, Feb. 23-26, 1998. at Melbourne, Australia

Hepatitis C Virus NS5B: The anchoring domain and transactivation ability. S. Murakami, Y. Shiota, W. Qin, Y. Ling, C. Huang, S. Kaneko, K. Kobayashi, T. Yamashita. 5th International Symposium on Positive Strand RNA Viruses. Poster, May 22- 28, 1998 at St. Petersburg, Florida, USA

Hepatitis B Virus (HBV) X protein functionally antagonizes RPB5-mediated protein, RMP, the negative transcriptional modulator that interacts with RPB5.

S. Murakami, D. Dojjsuren, Y. Yang, W. Wei and Y. Lin. LXIII Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology on Mechanisms of transcription. June 3- 8, 1998, Cold Spring Harbor, NY. USA

Hepatitis C Virus (HCV) non-structural 5B (NS5B) has an anchoring domain at the C-terminal which is dispensable for the RNA-dependent RNA polymerase activity.

T. Yamashita, Y. Shiota, WP. Qin, S. Huang, K. S. Kaneko, K. Kobayashi, S. Murakami. 5th International Meeting on Hepatitis C Virus and related viruses Molecular Virology and Pathogenesis, Oral. 1998 June 25-28, Venetia, Italy.

Interaction between HCV NS5A and NS5B in vivo and in vitro.

Y. Shiota, Y. Shiota, WP. Qin, S. Huang, K. S. Kaneko, K. Kobayashi, S. Murakami. 5th International Meeting on Hepatitis C Virus and related viruses Molecular Virology and Pathogenesis, Poster 1998 June 25-28, Venetia, Italy.

Interaction of HCV NS5B protein, RNA dependent RNA polymeras, with the minus strand of 5'UTR and 3'UTR RNA.

Z. Huang, Y. Shiota, T. Yamashita, WP. Qin, S. Murakami. 5th International Meeting on Hepatitis C Virus and related viruses Molecular

Virology and Pathogenesis, Poster 1998 June 25-28, Venetia, Italy.

Hepatitis B Virus X protein modulates transcription machinery and functionally antagonizes RMP, a novel host protein.

S. Murakami, Mol. Oncol., Cancer Res. Inst. Kanazawa Univ. Co-Organizer, and invited speaker, 469th Bellagio Conference on "Hepatitis viruses and human liver diseases", August 31 - Sept. 4, 1998, at Bellagio, Italy.

Characterization of genes to interact with CDC13

N. Hayashi, and S. Murakami Dynamic organization of nuclear function. Oct. 7-11, 1998, at Cold Spring Harbor Laboratory, NY. USA.

HBx is a functional antagonist of RPB5-mediating protein, RMP.

Dorjbal Dorjsuren, Yida Yang, Yong Lin, Wenxiang Wei, Naoyuki Hayashi, Takahiro Nomura, Seishi Murakami. Mol. Oncol., Cancer Res. Inst., Kanazawa Univ. The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, 1998 at University of California-San Diego

An attempt for controlled expression of human hepatitis B virus X protein.

Hong Tang, Takahiro Nomura, Yong Lin, Dorjbal Dorjsuren, Yida Yang, Seishi Murakami. Mol. Oncol., Cancer Res. Inst., Kanazawa Univ The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, 1998 at University of California-San Diego

Oncogenic role of Hepatitis B Virus X protein which modulates transcription machinery and functionally antagonizes RMP, a novel protein.

Seishi Murakami. 98 Seoul Symposium on "Gene and Human Diseases", 50th Memorial Meeting of Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology  
1998, 10, 29-30, Seoul.

Oncogenic role of Hepatitis B Virus and X protein.

Seishi Murakami.. Invited speaker as an honorary lecture at West China University of Medical Sciences, April 2, 1998, Chengdu, China

Structure and Function of HBV X protein. Seishi Murakami. Special Lecture at Dept. Biochemistry, Sch. Med., Univ. Minnesota. May 29, 1998

Transcriptional modulation of Hepatitis B Virus X protein. Seishi Murakami. Lecture at Dept. Microbiol. & Mol. Immunol., Medical Unit. Galveston, Univ. Texas. July 1st, 1998.

B型肝炎ウイルス X 蛋白の転写仲介作用の分子機構

Lin Yong, Dorjbal Dorjsuren, Wenxiang Wei, 野村孝弘、村上清史 第57回日本癌学会総会、1998、9月30-10月2日、横浜。

HCV NS5A と NS5B の結合能に関する検討

代田幸博、山下竜也 1、Qin WeiPing, 金子周一、小林健一、村上清史、第57回日本癌学会総会、1998、9月30-10月2日、横浜。

RPB5 改合成蛋白 RMP は TFIIB とともに作用する負の転写修飾因子である。

Dorjbal Dorjsuren, Yida Yang, Yong Lin, Wenxiang Wei, Naoyuki Hayashi, Takahiro Nomura, Seishi Murakami 第57回日本癌学会総会、1998、9月30-10月2日、横浜。

発現抑制型のヒト B 型肝炎ウイルス X 遺伝子によるトランス活性化解析の試み

野村孝弘、Hong Tang, Yong Lin, Dorjbal Dorjsuren, 村上清史 第57回日本癌学会総会、1998、9月30-10月2日、横浜。

HCV NS5B の細胞内局在：アンカー領域の同定について

山下竜也、代田幸博、WeiPing Qin, 金子周一、小林健一、村上清史 第57回日本癌学会総会、1998、9月30-10月2日、横浜。

Hepatitis B Virus X protein modulates transcription machinery. S. Murakami. Lecture  
at Graduate Course of Molecular Biology and Biotechnol., Korean Univ.,  
at Oct 30, 1998, in Seoul.

HCV NS5B RNA 依存 RNA ポリメラーゼ活性の特性と C 末端の anchoring domain の同定 山下竜也、小林健一、村上清史 第 2 回肝臓学会大会、シンポジウム、1998、10月16日、金沢

HCV RNA 依存 RNA ポリメラーゼ NS5B の RNA 結合特性  
村上清史、代田幸博、Qin Weiping, 山下竜也 第 2 1 回日本分子生物学会総会、  
1998,12, 18

HCV NS5A と NS5B の蛋白・蛋白相互作用に関する検討  
代田幸博、山下竜也、Qin WeiPing, 村上清史、第 2 1 回日本分子生物学会総会、  
1998,12, 18

出芽酵母 Cdc13 と相互作用する因子  
林 直之、村上清史 第 2 1 回日本分子生物学会総会、1998,12, 1 7

Functional study of RNA polymerase subunit 5 (RPB5) in yeast.  
Dorjbal Dorjsuren, Naoyuki Hayashi, Yong Lin, Wenxiang Wei, Seishi Murakami 第 2 1 回日本分子生物学会総会、1998,12, 1 7

In vitro interaction of human general transcription factor TFIIF and RNA polymerase II subunit 5.  
Wenxiang Wei, Dorjbal Dorjsuren, Yida Yang, Yong Lin, Seishi Murakami  
第 2 1 回日本分子生物学会総会、1998,12, 1 7

テトラサイクリン制御による B 型肝炎ウイルス X 遺伝子の発現の試み  
野村孝弘、Hong Tang, Yong Lin, Dorjbal Dorjsuren, 村上清史 第 2 1 回日本  
分子生物学会総会、1998,12, 18