

# Direct interaction between nucleolin and hepatitis C virus NS5B

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード: 作成者: 平野, 正明 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/15773">http://hdl.handle.net/2297/15773</a>

学位授与番号	甲第1565号
学位授与年月日	平成15年3月25日
氏名	平野正明
学位論文題目	Direct interaction between nucleolin and Hepatitis C Virus NS5B (C型肝炎ウイルス非構造領域5Bと核小体蛋白ヌクレオリンの相互作用に関する検討)
論文審査委員	主査 教授 馬 淵 宏 副査 教授 中 沼 安 二 教授 中 尾 眞 二

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌の原因ウイルスであるC型肝炎ウイルス(HCV)の非構造領域(NS)5Bは、RNA依存性RNA合成酵素(RdRP)でありHCV複製の中心的な酵素である。NS5B蛋白の細胞内局在は細胞質であるが、そのC端21アミノ酸を欠失させたNSSBtは主に核小体に局在する。一方核小体蛋白であるnucleolinは、様々なウイルスの複製に関わっているとの報告がされている。今回、GFP融合蛋白を用いてNSSBとnucleolinの局在を観察し、GST pull-down assayを用いてNSSBとnucleolinの結合に関して検討した。更にNSSBのRdRP活性に与えるnucleolinの影響についても検討し、以下の結果を得た。

1. GFP融合NSSBは核周辺の細胞質に局在し、この時内因性nucleolinは核小体から細胞質に移動しNSSBと共局在を示した。一方GFP融合NSSBtは主に核小体で内因性nucleolinと共局在を示した。
2. COS1細胞を用いたGST pull-down assayの結果からNSSB蛋白がnucleolinと特異的に結合することが確認された。
3. *In vivo*、*In vitro*のGST pull-down assayの結果から、nucleolinのC端のRNA binding domain 4とRGG domainの両者がNSSBとの結合に必要であることが確認された。
4. NSSBのclustered mutantを用いた結果から、NSSBの208-214アミノ酸と500-506アミノ酸の2領域がnucleolinとの結合に重要であることが示された。これらの領域は塩基性アミノ酸に富む配列であった。
5. これらのclustered mutantのGFP融合NSSBtの細胞内局在は核小体ではなく細胞質であり、この2つのアミノ酸配列が核小体局在に必要であることがわかった。
6. UMP incorporation assayによる検討で、NSSBと結合するnucleolinはRdRP活性を濃度依存性に抑制したのに対し、NSSBと結合しないnucleolinは、RdRP活性に影響を与えなかった。

以上本研究が、ウイルス複製をターゲットとした抗ウイルス薬の開発に寄与するとともにウイルス複製のメカニズムの解明への道を開くものと判断された。