ヒトB型肝炎ウイルス(HBV)X蛋白とRNAポリメラーゼの共通サブユニットRPB5の結合とトランス活性化機構

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2017-10-05
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者:
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/15236

学位授与番号	医博甲第1148号
学位授与年月日	平成7年3月25日
氏　　名	鄭　載　勲
学位論文題目	Human RPB5, a subunit shared by eukaryotic nuclear RNA polymerases, binds human hepatitis B virus X protein and may play a role in X transactivation.
論文審査委員	主　査　教　授　清　木　元　治
	副　査　教　授　松　島　綱　治
	教　授　小　林　健一

内容の要旨及び審査の結果の要旨

ヒトB型肝炎ウイルス（HBV）による肝細胞がん発症にはHBV X蛋白による宿主遺伝子のトランス活性化が関与していると推定される。Xトランス活性化の分子機構を明らかにする目的で，蛋白－蛋白の相互作用のin situ検索方法（Far-Western法）を用いて，HepG2 cDNAライブラリーから，X蛋白と結合する宿主蛋白（X-associated protein : XAP）遺伝子を直接選択・単離した。

得られたクローンXAP4は，遺伝子構造決定によりRNAポリメラーゼⅠ，Ⅱ，Ⅲに共通するサブユニットの1種のhuman RPB5遺伝子であることが判明した。hRPB5（XAP4）蛋白の完全型及び欠損型癒合蛋白を大腸菌で発現・精製し，Far-Western法によるX蛋白との特異的結合をin vitroで検討した結果，hRPB5はX蛋白のトランス活性化ドメインに結合し，hRPB5の中央領域がX蛋白との結合性に必須であった。HepG2細胞で強制発現したhRPB5とX蛋白は，細胞中で両者が特異的に結合することが免疫共沈法で示され，両者の結合必須領域はin vitroの結果と一致した。X蛋白を強制発現したHepG2細胞の全抽出蛋白を密度勾配により分画し，RNAポリメラーゼ完全酵素を含む1000Kd以上の巨大複合体を分取して，免疫共沈法により解析し，X蛋白が内在性hRPB5と強く結合していることが示された。HepG2細胞中で，強制発現されたX蛋白結合領域hRPB5は，単独でもX蛋白と付加的にも，X応答性エンハンサーをトランス活性化することがCAT assay法により示された。これらの結果から，HBV X蛋白とhRPB5との特異的結合を介して，X蛋白と転写酵素（RNAポリメラーゼ）が会合していることが示唆された。またX蛋白のトランス活性化が，X蛋白と転写本体との相互作用による転写活性化である可能性が強く示唆された。hRPB5がトランス活性化能を保持する結果は，X蛋白と競合する負に働く宿主転写制御因子の存在を示唆したが，その同定は今後に残された。

本研究は，転写酵素とウイルス制御蛋白との結合による転写修飾の可能性を示し，HBV X蛋白によるトランス活性化の新たな分子機構を提出し，X蛋白と発癌との関連の解明に大きく寄与する労作と評価された。