

## 論文内容要旨

論文題目：ヒトパピローマウイルスのゲノム動態に関与する宿主細胞蛋白質に関する研究

指導教官 武谷 雄二 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 18 年 4 月入学

医学博士課程

生殖・発達・加齢医学専攻

佐藤 英貴

ヒトパピローマウイルスは 2 本鎖環状 DNA 構造をとる DNA ウィルスであり、約 100 程度の遺伝子型に分類され、子宮頸癌発症の最大のリスクファクターと考えられている。子宮頸癌の発癌過程において、ヒトパピローマウイルスの持続ウイルス増殖は最も初期のイベントである。そのために HPV は細胞分裂時に絶えずウイルスゲノムを継代されなければならないが、そのメカニズムは不明である。本研究では、細胞分裂時における HPV のウイルスゲノム維持のメカニズムを解明することを目的とした。

標識された 3 つの HPV16 ゲノム DNA 断片（塩基番号 7791-120、 131-360、 531-780）を子宮頸癌細胞である HeLa 細胞の核抽出液と混合し、SDS-PAGE にて結合蛋白質を分離した。ペプチドマスフィンガープリンティング法にて結合蛋白質の同定を行った。大腸菌にて同定された組換え蛋白質を作成し、ゲルシフトアッセイによりウイルスゲノムの結合塩基部位を決定した。実際の細胞内において、同定された蛋白質と HPV16 ウィルスゲノムが結合することを示すためにクロマチン免疫沈降法を行った。プロモーター領域を含む HPV16 ゲノム DNA 断片（塩基番号 531-780）に特異的に強く結合する 97kDa の未知蛋白質を検出した。蛋白質同定により、核小体に豊富に存在する nucleolin であることがわかつ

た。HPV16 ゲノムの中で、塩基番号 604-614 領域が nucleolin と配列特異的に結合した。HeLa 細胞およびヒト上皮角化細胞の内在性 nucleolin は、HPV16 ウイルスゲノムと細胞内で結合することが確認された。しかし、nucleolin の HPV ゲノム転写への関与は否定的である。最近になり nucleolin 結合配列を含む領域がゲノム維持に重要な役割を果たしていることが報告された。nucleolin の HPV ゲノム動態に関する役割としてゲノムの維持を担う可能性がある。しかし、現時点において nucleolin の HPV16 ゲノムへの結合によってゲノム動態に与える影響は解かっている。