

審査結果の要旨

氏名 岡本 有加

本研究では、培養細胞内に効率的に複製増殖が可能でありウイルスの生活環の全過程を解析可能な JFH-1 株を用い、その NS5A を様々な株に置き換えたキメラ体のウイルス産生を比較することにより、異なる株の NS5A によるウイルスの生活環への影響を解析した。

その結果、以下の 4 点が明らかとなった。

- (1) Huh7.5.1 細胞に合成した全長キメラ RNA を導入した際の細胞内及び上清中の Core タンパク質の量並びに感染性の検討から、これらのキメラ体は程度の差はあったが全て複製増殖及びウイルス産生が可能であると考えられ、NS5A を他の株由来にしてもウイルスの生活環が成立することが明らかとなった
- (2) 次に、ウイルス産生量の相違がウイルス生活環のどの段階に起因するのかを詳細に検討した。サブゲノミックレプリコンを用いたルシフェラーゼアッセイで複製効率を検討し、更に Huh7-25 細胞を用いて、作製した全長キメラ体の intracellular specific infectivity と分泌効率をそれぞれ算出して比較した所、JFH-1/5A-H77 及び JFH-1/5A-Con1 のウイルス産生低下はそれらの複製及び粒子形成効率の低下に依存することが明らかになった。
- (3) 一方、(2)と同様に複製効率、intracellular specific infectivity と分泌効率の検討から、JFH-1/5A-J6 では、JFH-1/5A-J6 におけるウイルス産生の亢進は、その高い粒子形成効率に依存することが示された。更に、この粒子形成効率の亢進には J6 の NS5A の C 末端 10 アミノ酸が重要であることが明らかとなった。
- (4) (3)の結果から、更に粒子形成効率の亢進の機序を解析した所、パルスチェイス法を行った実験の結果から、NS5A-5B 間のプロセシングが粒子形成効率に関与し、特に NS5A の C 末端領域の 2438, 2439 番のアミノ酸が重要であることが明らかになった。

本研究は、NS5A によるウイルス粒子形成の制御機構に新たな知見を与えると共に、様々な genotype の NS5A に対する薬剤の効果を評価できるものとして有用である可能性がある NS5A のキメラ体を新たに作製しており、学位の授与に相当すると認められる。