

学位授与番号	医博甲第979号		
学位授与年月日	平成3年3月25日		
氏名	内嶋雅人		
学位論文題目	ヘパドナウイルスのエンハンサー領域の保存された配列に結合する核タンパク質の精製とその性質		
論文審査委員	主査	教授	原田 文夫
	副査	教授	清木 元治
		教授	小林 健一
		助教授	村上 清史

内容の要旨および審査の結果の要旨

ヒトB型肝炎ウイルスを含むヘパドナウイルスは共通したゲノム構造をもち、ウイルス遺伝子の発現の調節に関与するエンハンサーは、S遺伝子とX遺伝子の間の約0.2 kbの領域に存在する。この領域にはいくつかのタンパク質結合部位が存在することが報告されているが、各部位のエンハンサー活性における役割及び結合するタンパク質については明らかにされていない。

著者はヘパドナウイルスのエンハンサー領域中に保存されている33 bpの配列の中央部分に存在する23 bpの配列(HE-C)がエンハンサー活性に本質的であることを明らかにすると共に、HE-C配列に特異的に結合するタンパク質を精製し、その性質を調べた。

肝癌由来のHep G 2細胞から核抽出液を調製し、4種類の異なるカラムクロマトグラフィーを行うことにより、HE-C配列に結合するタンパク質を部分精製した。この画分を新たに調製したHE-C DNAアフィニティーカラムで分離することにより、分子量70 kd及び85 kdの2つの成分からなるタンパク質複合体を高純度に精製することに成功した。

精製タンパク質のDNA結合特異性を調べるために、HE-C配列及びHE-C中に存在する2つの特徴的なモチーフ、TGACGとCCCCCにそれぞれ2塩基の置換を加えた配列(m1m2)をプローブとしてゲルシフトアッセイを行った結果、精製タンパク質はHE-C配列とのみ結合することが明らかになり、このDNA-タンパク質複合体の形成は塩基配列特異的であることが確認された。また、HE-C配列のエンハンサー活性もDNA-タンパク質複合体形成と同様の塩基配列特異性を示すことから、この精製タンパク質がエンハンサー活性に直接関与する因子であることが示唆された。更に、精製タンパク質とHE-C配列の結合様式を調べるためにUVクロスリンク実験を行った結果、2つのタンパク質成分のうち70 kdのものがHE-Cと直接結合することが示され、85 kdのタンパク成分はタンパク質間の相互作用によって70 kdのタンパク成分と結合して2量体を形成することが示唆された。

以上、本研究はヘパドナウイルス遺伝子の転写調節に必須と考えられるエンハンサー結合タンパク質を精製し、エンハンサー配列との結合特異性を明らかにしたものであり、ウイルス遺伝子発現の制御機構解明に重要な知見を与えるものと評価された。