

## 論文の内容の要旨

論文題目 単純ヘルペスウイルス 1 型の小胞媒介性核外輸送に関する研究

氏名 竹島 功高

単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) 感染細胞の核内で形成されたヌクレオカプシドは、小胞媒介性核外輸送と呼ばれる生物学的にとってもユニークな輸送機構によって、核内から核外へ輸送される。この輸送過程では、まず、核内のヌクレオカプシドが核内膜から出芽することで、核膜間に核内膜をエンベロープとして獲得したウイルス粒子が形成される。その後、核膜間のウイルス粒子が核外膜と融合することによって、ウイルス粒子中のヌクレオカプシドが核外へと放出される。HSV-1 因子 UL31 及び、UL34 から構成される複合体である Nuclear Egress Complex (NEC) は、小胞媒介性核外輸送において必須の因子であると考えられており、核内膜の膜変性、核膜間粒子へのヌクレオカプシドの取り込み及び、核膜間粒子形成時の核内膜切断など多岐にわたり小胞媒介性核外輸送に関与していると考えられている。HSV-1 NEC とヌクレオカプシドの結合は、核内で形成されたヌクレオカプシドの出芽と核膜間粒子へのヌクレオカプシド取り込みに関与しているとされるが、この仮説を直接的に証明する実験結果は未だ得られていない。本研究では、NEC と核内で形成されたヌクレオカプシドとの結合が核膜間ウイルス粒子形成過程において、どのような役割が

あるのか解明するために、試験管内で HSV-1 NEC とヌクレオカプシド及び、カプシドタンパク質との結合を検証できる実験系の構築を行った。

構築した実験系を用いた結果、HSV-1 NEC は、ヌクレオカプシド及び、特定のカプシドタンパク質 (UL25) と結合していた。また、UL31 の 281 番目のアルギニン (UL31 R281) 及び、282 番目のアスパラギン酸 (UL31 D282) が NEC とヌクレオカプシド及び、UL25 との効率的な結合に必要であることが明らかになった。さらに、HSV-1 感染細胞における HSV-1 NEC とヌクレオカプシドとの結合の意義を調べるために HSV-1 UL31 R281 及び、UL31 D282 をアラニンに置換した変異ウイルスを作製した。HSV-1 UL31 R281 及び、UL31 D282 に変異を導入したウイルスは、感染細胞におけるウイルス増殖の割合が野生体と比較して低下していた。さらに、HSV-1 UL31 R281 及び、UL31 D282 に変異を導入したウイルス感染細胞では、野生体と比較して核内にカプシドが蓄積しており、核膜間にヌクレオカプシドを含まない空の粒子が大量に観察された。この空の粒子の大きさは、野生体感染細胞内で通常観察される核膜間ウイルス粒子とほとんど同じであった。これらの結果から、HSV-1 NEC の UL31 R281 及び、UL31 R282 を介した、NEC とヌクレオカプシドに含まれる UL25 との結合は、ヌクレオカプシドの核膜間粒子への効率的な取り込みを促進し、ウイルス増殖に寄与していることが示唆された。