

## 研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		ハエ細胞を用いた小胞媒介性核外輸送機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Study on vesicle-mediated nucleocytoplasmic transport using drosophila cells.			
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓)アライ	名)ジュン	研究期間 B	2016 ~ 2017 年
	漢字 CB	有井	潤	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Arii	Jun	研究機関名	東京大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		東京大学 医科学研究所・助教			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>単純ヘルペスウイルス(HSV)はヒトに多様な病態を引き起こし、関連する医療費はアメリカ合衆国で年間数十億ドルと試算されるほど大きな問題となっている。HSV は核内で複製する DNA ウイルスである。ゲノムを内包したカプシドは核内で形成されるが、核内外の輸送を担う核膜孔の内径よりも巨大である。そのため HSV は小胞媒介性の核外輸送を用いてカプシドを細胞質に輸送し、そこで成熟ウイルスとなる。すなわち、カプシドは一旦核内膜に対して“出芽”し、核内外膜間腔に小胞を形成する。この小胞は、核外膜に融合することで核膜を維持したままカプシドを核外に輸送する。小胞媒介性核外輸送は、HSV がコードするウイルス因子 NEC によって担われ、非感染細胞においてはほとんど認められない。しかし近年ハエの神経・筋接合部において、巨大リボヌクレオプロテイン(RNP)の核外輸送が小胞媒介性であることが示された。すなわち、HSV カプシドの核外輸送も宿主機構に強く依存していることが示唆されるが、現在までのところ HSV カプシドの核外輸送に必須の宿主因子も、その具体的なメカニズムも解明されていない。</p> <p>申請者は、HSV の核外輸送を研究する過程で、核内膜の切断に寄与する宿主因子を同定した。この因子のオルソログはハエにも保存されていたため、同因子のハエ巨大 RNP の核外輸送への寄与を解析した。同因子に対する dsRNA をハエ S2 細胞に導入したところ、同因子の mRNA レベルが減少し、ノックダウンが成立していることが確かめられた。同 dsRNA を作用させた S2 細胞を蛍光抗体法を用いて解析したところ、巨大 RNP と挙動をともにするハエ Frizzles2 の核周囲の量が増加していた。さらに dsRNA を処理させた S2 細胞を電子顕微鏡下で観察したところ、核膜間の粒子様構造数が増加していた。これらの結果から同因子の発現抑制により、巨大 RNP の核外輸送が阻害されていることが明らかになり、同因子の小胞媒介性核外輸送への普遍的な寄与が示唆された。</p> <p>今後は、同因子の非感染哺乳類細胞における意義を解析することで、小胞媒介性核外輸送の有無を検証する予定である。</p>					
キーワード FA	ハエ	核膜	HSV		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要<sup>EZ</sup>

Herpesviruses have evolved a unique mechanism for nucleocytoplasmic transport of nascent nucleocapsids: the nucleocapsids bud through the inner nuclear membrane (INM; primary envelopment), and the enveloped nucleocapsids then fuse with the outer nuclear membrane (de-envelopment). Although this type of vesicle-mediated nucleocytoplasmic transport has not been reported previously, other than for herpesvirus nuclear egress, it has recently been reported that *Drosophila* cellular ribonucleoprotein (RNP) complexes utilize a similar mechanism for their nucleocytoplasmic transport in neurons. This suggested that vesicle-mediated nucleocytoplasmic transport may be a general cellular process for export of large macromolecular complexes from the nucleus, mediated by specific cellular proteins.

Recently, we focus on the protein which contributes nuclear egress of herpes virus capsid. In *Drosophila* cells, RNPs are incorporated into large nuclear granules together with *Drosophila* Frizzled 2 (DFz2), which can be detected as DFz2-positive foci by confocal microscopy and as INM invaginations with large electron-dense granules by electron microscopy. Knockdown of the protein significantly increased the frequency of DFz2-positive foci associated with the nucleus and the induction of INM invaginations with large electron-dense granules in S2 cells. These results suggested that this protein regulated nuclear egress of macromolecular complexes.