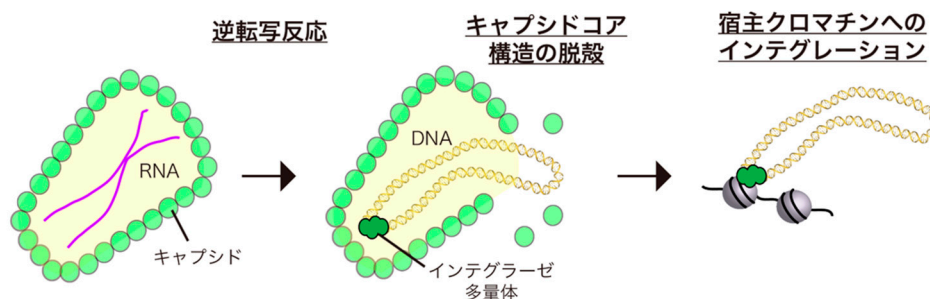


【目的】 本研究の目的は、HIV 感染プロセス—特に、ウイルス膜とヒト細胞膜の融合から始まり、キャプシドコア内のウイルス RNA の逆転写、二本鎖 DNA への変換、さらにウイルス DNA が宿主クロマチンに組み込まれるまでの過程—の分子機構を明らかにすることである。これらの反応は抗 HIV 治療の重要なターゲットであり、その深い理解は新たな治療戦略開発に必須である。しかし、これらの過程は完全には解明されていないため、本研究では細胞生物学的手法、生化学的手法、構造生物学的手法により、HIV 逆転写反応からインテグレーションに至るまでの詳細なメカニズムを解析することを目指した。

【方法】 宿主エピゲノム機構を利用した HIV-1 複製機構の解明のために、HIV-1 のエピゲノム制御因子を Proteomics of isolated chromatin segments (PICh) 法および siRNA スクリーニングにより同定した。さらに、細胞生物学および生化学的手法により、HIV-1 ゲノムに形成されるエピゲノム動態を解析した。また、HIV-1 複製反応、特に逆転写反応を時空間的に解析するために、高効率の無細胞 HIV-1 逆転写反応系の構築を行った。さらに、逆転写反応の場となるキャプシド複合体のクライオ電子顕微鏡解析を実施した。

【結果】 PICh 法および siRNA スクリーニングにより、POLE3 を HIV-1 のエピゲノム制御因子として同定した。また、POLE3 はインテグレーション前の HIV-1 DNA に集積し、そのサイレンシングに機能することで、宿主ゲノムへの HIV-1 DNA の取り込みを担保し、HIV-1 複製を効率的に進行させる因子であることを明らかにした。一方で、HIV-1 の逆転写反応を時空間的に解析するために、高効率の無細胞 HIV-1 逆転写反応系を構築した。また、qPCR 法により、逆転写反応の各ステップにおける産物を検出し、その時間情報を得ることに成功した。さらに、逆転写反応の場となるキャプシド複合体のクライオ電子顕微鏡解析を行い、HIV-1 キャプシド複合体に関する構造解析基盤を構築した。構築した無細胞 HIV-1 逆転写反応系に本構造解析技術を適用することで、逆転写反応中の HIV-1 キャプシド複合体に関する空間情報を取得できることが期待される。

HIV-1 複製メカニズムの解明



一 宿主エピゲノム機構を利用したHIV-1複製機構の解明

(細胞生物学的手法、生化学的手法)

一無細胞HIV-1複製システムによるHIV-1複製の時空間的解明

(構造生物学的手法、生化学的手法)