

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

細胞 PKR 磷酸激酶在 D 型肝炎病毒蛋白之磷酸化及 RNA  
複製的角色(2/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2320-B-002-102-

執行期間：91 年 08 月 01 日至 92 年 07 月 31 日

執行單位：國立臺灣大學醫學院臨床醫學研究所

計畫主持人：陳培哲

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 5 月 27 日

## 一. HDAC 影響 SHDAg 在細胞內表現的位置

欲了解 SHDAg 被 hyper-deacetylation 後，是否會改變此 SHDAg 蛋白質位於細胞內的位置，因此，我們取目前已知的 HDAC1-8 (histone deacetyl-transferase) 蛋白質，分別與會表現 SHDAg 的質體進行 cotransfection 到 Huh-7 細胞中，並進一步觀察 SHDAg 於細胞內表現的位置。單獨表現 SHDAg 於細胞株時，SHDAg 表現於核仁的細胞株有 84%，16% 擴散於整個細胞核。分別共同轉染 HDAC1-8 和 SHDAg 的質體，發現許多 SHDAg 會受 HDAC 影響，導致 nucleolus 所積聚的 SHDAg 散佈到細胞核質中，其中當細胞同時表現 SHDAg 和 HDAC2-8，80% 以上的細胞所生產的 SHDAg 會擴散於細胞核質內，少數低於 20% 細胞的 SHDAg 會聚集在細胞核仁中，HDAC1 和 SHDAg 共同表現的細胞株，有 59% 的細胞株 SHDAg 表現於細胞核質中。因此，我們推測，可能 SHDAg 的 nucleolus localization signal 被 HDAC 所破壞掉了，當中發現極少數 HDAC4 和 SHDAg 共同表現於細胞質中，而且位置相同。

## 二. SHDAg 突變株在細胞內位置的影響

我們可以取點突變在 nucleolin binding sequence 區域的 SHDAg 蛋白質，分列如下之 S-HDAgL38R、S-HDAgL39R、S-HDAgL40R、S-HDAgL42R、S-HDAgL43R、S-HDAgL72R、S-HDAgL38-40R、

S-HDAg<sup>L39,40R</sup>、S-HDAg<sup>L42,43R</sup>、S-HDAg<sup>L38,43R</sup> 突變蛋白質，共同轉染 HDAC，然後用免疫染色觀察細胞內 S-HDAg 的表現位置，發現除了 S-HDAg<sup>L72R</sup> 外，其他的突變株蛋白質依然表現於細胞核中，同時細胞型態多處於細胞分裂期。

### 三. 偵測共同轉染 HDAC4 和 HDV2G 或 HDV2AG 於細胞株中的 SHDAg 表現

分別共同轉染 HDAC4 和 HDV2G 的質體到細胞株，發現 SHDAg 會受 HDAC4 影響，導致表現於細胞核質中，或表現於細胞質中的現象，同時與在細胞質中的 HDAC4 有 co-localization 的情形，其發生的比率還需更進一步研究，當共同轉染 HDAC4 和 HDV2AG 的質體到細胞株內，我們發現同樣的情形。另外我們還需更進一步觀察除了 HDAC4 以外，是否還會有相同的情況發生。

### 四. 偵測共同轉染 HDAC4 和 HDV2G<sup>72R</sup> 或 HDV2AG<sup>72R</sup> 於細胞株中的 SHDAg 表現

轉染的 HDV2G<sup>72R</sup> 或 HDV2AG<sup>72R</sup> 會在複製過程中表現 SHDAg<sup>L72R</sup> 的基因體，因此我們用免疫染色法觀察細胞內有 HDAC4 表現時，發現細胞質內所表現的 SHDAg<sup>L72R</sup> 會與細胞核中 HDAC4 有 co-localization 現象，不過研究正在進行中，需更進一步統計其發生的比率。同時須研究其他的 HDAC 對此的影響。

#### 四. HDAC 對細胞內 HDV 複製所造成的影響

我們將 HDAC1-8 的八種型態，分別與會表現 genomic HDV 以及 anti-genomic HDV 的質體，共同轉染到 Huh-7 細胞，於兩天和四天後，抽取細胞內的 RNA 和蛋白質，試圖研究 HDV 在這個複製過程中，是否受到 HDAC 的影響，初步結果發現每一類 HDAC 對複製中的 HDV genomic 或 anti-genomic RNA 表現量，影響不顯著，而 SHDAg 在細胞內的表現量和控制組相當。