

審査の結果の要旨

氏名 尾田 真也

本研究は単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) のウイルス粒子形成過程において重要な役割を果たしていると考えられるテグメント蛋白質間相互作用の意義を明らかにするため、ウイルス増殖過程における HSV-1 テグメント蛋白質 UL51 と UL14 の相互作用の機能について解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. HSV-1 感染細胞を抗 UL51 抗体および抗 UL14 抗体で免疫沈降を試みた結果、UL51 と UL14 が共沈降された。さらに、抗 UL51 抗体および抗 UL14 抗体を用いた免疫蛍光法により HSV-1 感染細胞内での両蛋白質の局在を観察したところ、細胞質において UL51 と UL14 が共局在することが認められた。
2. GST 蛋白質融合 UL51 を用いた GST pull-down 法により UL51 の UL14 との結合領域を探索した結果、UL51 の 90-130 番目のアミノ酸領域が UL14 との結合に重要であることが示された。さらに、UL51 の 111 番目のロイシン、119 番目のイソロイシン、123 番目のチロシンをアラニンに置換することにより、UL51 と UL14 の相互作用が減少されることが示された。
3. UL51 欠損ウイルス、UL14 欠損ウイルス、UL51 と UL14 の相互作用を阻害するよう UL51 の 3 箇所のアミノ酸をアラニンに置換したウイルス、および UL51 と UL14 の二重欠損ウイルスを作製し、ウイルス増殖能への影響を解析した。いずれのウイルスにおいても野生型と比較し同程度のウイルス増殖能の低下、およびプラークサイズの減少が認められ、UL51 と UL14 の相互作用が HSV-1 のウイルス増殖に機能していることが示された。
4. 免疫蛍光法により各変異ウイルスの感染細胞内での UL51 と UL14 の局在を観察した結果、UL51 と UL14 が適切な細胞内局在をとるためには、UL51 と UL14 が相互作用する必要があることが示された。
5. 電子顕微鏡を用いて、各変異ウイルス感染細胞内のウイルス粒子の分布を解析した。いずれのウイルスの感染細胞においても、細胞質にエンベロープを獲得していないヌクレオカプシドが蓄積し、膜構造に部分的に覆われている二次エンベロープの獲得途中であると考えられるウイルス粒子の増加が認められ、UL51 と UL14 の相互作用が 2 次エンベロープ獲得に寄与することが示された。

6. 各変異ウイルス感染細胞において、Trans golgi network の TGN マーカー蛋白質である TGN46 の局在を免疫蛍光法により観察した結果、UL51 と UL14 の相互作用が HSV-1 感染時の TGN46 の再分布に関与することが示された。

以上、本論文は HSV-1 の粒子形成過程における 2 次エンベロープ獲得に、UL51 と UL14 の相互作用が寄与することを明らかにした。本研究は 2 次エンベロープ獲得においてテグメント蛋白質間の相互作用が機能していることを証明した初の報告であり、HSV-1 の粒子形成メカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。