

氏 名 (国籍)	サマド アブダス (バングラディシュ)		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 4793 号		
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科		
学 位 論 文 題 目	<b>Function of B23/nucleophosmin in assembly and disassembly of adenovirus core complexes</b> (アデノウイルスコア複合体の構造制御における B23 /ヌクレオフォスミンの機能)		
主 査	筑波大学教授	薬学博士	金 保 安 則
副 査	筑波大学准教授	博士 (医学)	斎 藤 慎 二
副 査	筑波大学講師	博士 (農学)	蔵 英 治
副 査	筑波大学講師	博士 (理学)	三 輪 佳 宏

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

目的：ウイルスのコア蛋白質 V と VII を含むアデノウイルス (Ad) ゲノムは Ad コアと呼ばれ、感染細胞における初期転写や複製の鋳型として機能し、*in vitro* での DNA の転写や複製に対しては不活性な鋳型である。B23 /ヌクレオフォスミンは、Ad コアを鋳型とした *in vitro* での DNA 複製を促進する Template Activating Factor-III の構成成分として同定された。しかしながら、B23 とアデノウイルス感染に関連した因子との機能的相互作用はこれまでに報告されていない。そこで本研究では、アデノウイルス生活環における B23 の機能を解明することを目的とした。

対象と方法：B23 と Ad コア蛋白質との相互作用は、感染させた HeLa 細胞の抽出液を用いた免疫沈降法、および組換えタンパク質を用いた GST-pull down 法により解析した。B23 と Ad コア蛋白質の細胞内局在は、免疫蛍光法により解析した。B23 とコア蛋白質 V の相互作用領域の解析は、B23 とコア蛋白質の断片の細胞への共発現系を利用した。B23 とコア蛋白質 V の相互作用の生理的意義の解析は、密度勾配遠心法、ChIP アッセイ、ゲルシフトアッセイにより行った。また、*in vivo* でのアデノウイルス感染における B23 の生理機能は、B23 変異体を用いて解析した。

結果：B23 はコア蛋白質 V、VII 及び VII の前駆体であるコア蛋白質 pre-VII と相互作用した。B23 とコア蛋白質 V の相互作用には、B23 の酸性アミノ酸領域とコアタンパク質 V の N 末端及び C 末端領域に存在する塩基性アミノ酸領域が必須であった。生化学的解析より、B23 は DNA とコア蛋白質の不活性な凝集体からのコア蛋白質の解離と、Ad コアからのコア蛋白質 V の解離を促進した。また B23 は DNA とコア蛋白質による不活性な凝集体の形成を抑制し、コア蛋白質 pre-VII と DNA との適切な複合体形成を促進した。最後に B23 のドミナントネガティブ変異体、あるいはデコイとしてコア蛋白質 V の B23 相互作用ドメインを細胞に発現させることで内在性 B23 の機能抑制を行うと、感染細胞からの感染性子孫ウイルス粒子の産生が抑制された。

考察：ウイルス感染初期において、Ad コアは初期遺伝子転写と複製にさきがけてその構造が変換されると

考えられる。B23はコア蛋白質と相互作用し、またDNAとコア蛋白質からなる不活性な凝集体からのコア蛋白質の解離を促進した。また、B23はAdコアからのコア蛋白質Vの解離を促進した。以上の結果から、ウイルス感染初期においてB23はAdコアの構造を変換することで、初期遺伝子転写及び複製の促進に関与すると考えられる。感染後期においては、新規に複製されたAdゲノムDNAはコア蛋白質pre-VIIおよびVと複合体を形成して子孫ウイルス粒子にパッケージングされる。B23はDNAとコア蛋白質の不活性な凝集体の形成を阻害し、またコア蛋白質pre-VIIのDNAとの適切な複合体形成を促進した。以上の結果から、B23はアデノウイルス生活環において、シャペロンとしてAdコア（Adクロマチン）の形成と解体の両方に関与するものと考えられる。

結論：本研究において、アデノウイルス生活環におけるB23の機能を解明することを目的とし、B23とウイルス感染に関連する因子との機能的相互作用を解析した。その結果、B23はAdコアを構成するウイルスのコア蛋白質と相互作用し、またAdコアからのコア蛋白質の解離およびDNAとコア蛋白質の適切な複合体形成の両方に関与することが明らかとなった。また感染細胞内において、B23の機能阻害によりアデノウイルスの増殖が抑制された。以上の結果から、B23はアデノウイルス生活環においてAdゲノム構造の制御にシャペロンとして機能するウイルスの増殖に重要な細胞性因子の1つであると結論できる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、*in vitro*でAdコアを鋳型としたDNA複製を促進する因子として同定されたB23／ヌクレオフォスミンのアデノウイルス生活環における機能を解明を目指して、そのための解析を行っている。その結果、B23はコア蛋白質V、VII及びコア蛋白質VIIの前駆対であるコア蛋白質pre-VIIと相互作用することを明らかにしている。また、B23は、DNAとコア蛋白質の不活性な凝集対からのコア蛋白質の解離とADコアからのコア蛋白質Vの解離を促進し、コア蛋白質pre-VIIとDNAとの複合体形成を促進することを見いだしている。さらには、内在性B23の機能を抑制すると、換算細胞からの感染性子孫ウイルス粒子の産生が抑制されることを見いだしている。これらの結果から、B23はアデノウイルス生活環においてシャペロンとしてAdコア（Adクロマチン）の形成と解体の両方に関与する機能を有することを考察している。これらの知見は、アデノウイルス生活環におけるAdゲノム構造制御を理解する上で非常に重要であり、新奇性の高い研究成果であると評価できる。また、著者の基礎学力や研究遂行能力は極めて優れたものであると評価できる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。