

別紙 1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 H. M. Abdullah Al Masud

論 文 題 目


Epstein-Barr Virus BKRF4 Gene Product Is Required for Efficient Progeny Production

(EB ウイルス BKRF4 遺伝子は効率のよい子孫ウイルス産生に必須である)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

荒川 定毅 

名古屋大学教授

委員

岡島 徹也 

名古屋大学教授

委員

近藤 豊 

名古屋大学教授

指導教授

木村 宏 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

本研究は、機能が不明であった Epstein-Barr virus (EBV) 溶解感染関連遺伝子 *Bam*HI-K rightward reading frame 4 (BKRF4) の機能解析を目的としている。BAC (大腸菌人工染色体) による手法、CRISPR/Cas9 による手法のいずれにおいても BKRF4 遺伝子欠損ウイルスの作成に成功し、HEK293 細胞、Akata 細胞 (B 細胞由来) にてその影響を調べることに成功した。BKRF4 は溶解感染後期に発現し、子孫ウイルス産生と子孫ウイルスの感染性の獲得に重要であることが判明した。さらに、BKRF4 は他の EBV テグメントタンパク質である BGLF2 と C 末端領域を介して相互作用し、子孫ウイルスの感染にはこの相互作用が重要であることもわかった。また、BKRF4 はリン酸化タンパク質であることを明らかにし、このリン酸化にはウイルスのプロテインキナーゼである BGLF4 の関与が示唆された。今回得られた知見は、溶解感染における複雑な子孫ウイルスの成熟過程の解明に寄与するものである。特に、CRISPR/Cas9 技術による B 細胞での EBV 遺伝子欠損ウイルスの作成、及び機能同定は本研究の特筆すべき点である。






本研究に対し、以下の点を議論した。

1. BAC システムとは、EBV (B95-8 株) の遺伝子操作を相同組み換えにより行い、HEK293 細胞へ導入する、従来から用いられる手法である。一方、本研究では、CRISPR/Cas9 システムにより自然宿主細胞に近い細胞である B 細胞由来の Akata 細胞において、EBV (Akata 株) の溶解感染関連遺伝子である BKRF4 遺伝子操作を行うことに成功した。EBV は上皮細胞、B 細胞のいずれにも感染することができるが、BAC システムでは B 細胞での機能解析は不可能であった。しかし、CRISPR/Cas9 システムにより、その限界を克服することに成功した。
2. CRISPR/Cas9 による遺伝子欠損ウイルスの作成にはいくつか困難な点があった。最も重要なポイントとして 2 点挙げられる。a) 潜伏感染の状態での遺伝子編集を行い、ウイルスをクローニングすること、b) 遺伝子編集を行ったウイルスに効率よく再活性化を誘導することである。
3. 他のヘルペスウイルスの報告によると、ヒトサイトメガロウイルスは細胞質中の核周囲領域でウイルス粒子複合体を形成する。その複合体はウイルス粒子の組み立てのほか、成熟や出芽にも重要な役割を果たす。BKRF4 は核周囲領域に局在するため、EBV においても、BKRF4 は BGLF2 と共に、おそらくゴルジ体において他のウイルスタンパク質と複合体を形成し、EBV のウイルス粒子組み立てや出芽などのプロセスに寄与している可能性がある。

本研究は、EBV BKRF4 遺伝子の機能に関して、重要な知見を提供した。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	H. M. Abdullah Al Masud
試験担当者	主査   副査 ₁ 岡島 徹也  副査 ₂ 近藤 豊  指導教授 木村 宏 			
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. EBV遺伝子の操作において、BACによる手法に対するCRISPR/Cas9による手法の優位性について 2. CRISPR/Cas9による溶解感染関連遺伝子欠損ウイルスの作成における最重要点について 3. 細胞質におけるBKRF4タンパク質の機能について、およびBGLF2タンパク質以外にBKRF4タンパク質と複合体を形成するタンパク質の存在について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、ウイルス学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				