Osaka University Knowledge Archive

Title	Superinfection of defective human immunodeficiency virus type 1 with different subtypes of wild-type virus efficiently produces infectious variants with the initial viral phenotypes by complementation followed by recombination
Author(s)	水田, 浩之
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49987
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【26】

氏　　名	水　田　浩　之（みず　た　ひろ　ゆき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２２７３５　号
学位授与年月日	平成21年３月24日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学　位　論　文　名	Superinfection of defective human immunodeficiency virus type 1 with different subtypes of wild-type virus efficiently produces infectious variants with the initial viral phenotypes by complementation followed by recombination （重感染によって出現した組み換えHIV-1の解析）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　生田　和良 （副査） 教　授　松浦　善治　　教　授　塩田　達雄

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

HIV-1は遺伝子変異を起こしやすく、サブタイプ間の組換え型も蔓延していることが知られているが、組換え型が出現するためには１個の細胞に複数のサブタイプが重感染することが前提となる。実際、既にHIV-1に感染している個体がさらにHIV-1に感染（スーパーインフェクション：SI）している証拠について多く報告されている。しかしこれまで、HIV-1感染でCD4発現が低下するためSIは困難と考えられ、コ・インフェクションもしくは分子クローンのコ・トランスフェクションによる解析が殆どであった。本実験では、B型のdefective HIV-1を産生する持続感染細胞クローン（L-2：*pol* 領域の変異のためドーナツ状ウイルス粒子を産生）へタイ臨床分離株CRF15_01BをSIさせる実験を行い、complementationやrecombinationを引き起こす可能性について検討した。

〔　方法ならびに成績　〕

L-2細胞へCRF15_01BをSIし、SIが成立した細胞から３株のクローン細胞を樹立した。それらのウイルスゲノム、発現蛋白質についてPCR法、ウェスタンブロット法、蛍光抗体法により解析した。また、これらのクローン細胞が産生するウイルスをMT-4細胞へ感染させるcell-free passageを3代繰り返し、それぞれの継代で得られたウイルスの塩基配列を解析した。ウイルス蛋白質の解析には単クローン抗体であるV107（B、01BのGag p24/p55に交差）、V17（BのGag p17特異的）、V32（BのPol TR特異的）を用いた。

〔　総　　括　〕

樹立された3つのクローン（E1、1G10、5D10）はBと01Bの両方のプロウイルスを持っているが、発現蛋白質はBで粒子形態は正常であることから、01B由来Polによるcomplementationと考えられた。産生する粒子中にも両サブタイプのゲノムが認められ、heterozygousな粒子の存在が考えられた。cell-free passageによって得られたウイルスの解析を行なったところGag、PolはBであり、継代が進むに従って少なくともpol領域のrecombinationが高頻度に起こり、B/01Bのモザイク状構造をとる多様なウイルスが出現することが明らかになった。しかし、継代後に01Bが出現してこない機序については不明である。

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

HIV-1の組換えが発生するためには１個の細胞に２種類以上のウイルスが重感染することが必要条件となる。HIV-1感染患者の中ではHIV-1持続感染細胞の大部分は非感染性のウイルスを産生することが知られているが、申請者らはこのような細胞も重感染の標的になり得ると考え、研究を行ってきた。

本研究において、１個の細胞に重感染することによって生じたヘテロザイガスなHIV-1が組換え型HIV-1の発生に重要な役割を果たしていることが実験的に示された。また、非感染性のHIV-1を産生する持続感染細胞であるL-2細胞が重感染成立後継代することにより、モザイク状の組換えを起こした感染性を有するHIV-1を産生したことから、重感染および組換えによって病原性の変化が起こる可能性が示唆された。

以上、申請者は本研究によってHIV-1における組換え型ウイルスの出現機序に重要な知見を提示したことから、学位の授与に値すると考えられる。