



Title	Acquisition of complement resistance through incorporation of CD55/DAF into viral particles bearing baculovirus GP64
Author(s)	要, 祐喜
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54140
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【48】

氏 名	かなめ ゆう 喜 要 祐 喜
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 6 1 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 22 年 3 月 23 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	Acquisition of complement resistance through incorporation of CD55/DAF into viral particles bearing baculovirus GP64 (バキュロウイルスGP64を持つウイルス粒子のCD55/DAF取り込みによる補体抵抗性の獲得)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松浦 善治 (副査) 教 授 塩田 達雄 教 授 生田 和良

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

ウイルスベクターによる生体内への遺伝子導入には補体による不活化が大きな障害となっている。近年、バキュロウイルスのGP64を被ったシュードタイプレトロウイルスベクターが補体抵抗性を示し、GP64シュードタイプレンチウイルスベクターがin vivoで長期にわたりレポータ遺伝子を発現できることが報告されている。しかしながら、GP64による補体抵抗性獲得の詳細なメカニズムはい

まだ解明されていない。そこで本研究は、GP64による補体抵抗性獲得機構の解明を目的とした。

〔 方法ならびに成績 〕

GP64の機能を解析するため、エンベロープ遺伝子を欠損させ、リポーターとしてルシフェラーゼ遺伝子を組込んだ水疱性口内炎ウイルス (VSV) に、GP64を被せたシュードタイプVSV (gp64pv) を作製した。対照としてVSVのエンベロープ蛋白質であるG蛋白質を被らせたVSVpvを作製した。また、VSVは昆虫細胞でも増殖する性質を利用して、VSVのG遺伝子をgp64遺伝子に置換した組換えVSV (gp64rv) を293T細胞と昆虫細胞で作製した。これらのウイルスの補体抵抗性をルシフェラーゼ活性と感染価を指標に解析した。既報のごとく、293T細胞で作製したgp64蛋白質を被ったgp64pvは、G蛋白質を被ったVSVpvに比べて補体抵抗性を示した。一方、組換えウイルスgp64rvを293T細胞で作製すると補体抵抗性を示したが、昆虫細胞で作製すると補体に感受性であった。次にこれらのウイルス粒子を精製し、イムノプロット法で解析した結果、293T細胞で作製したgp64pvやgp64rvの粒子中には、補体制御因子であるヒトCD55 (DAF) が取り込まれていることが確認された。そこで、GP64とヒトDAFの分画をフローテーションアッセイで、また、両者の結合を免疫沈降実験で解析した。その結果、GP64とDAFはともにリピッドラフト分画に存在して結合することが明らかとなった。次に、DAFが補体抵抗性に関与することを確認するため、RNA干渉を用いてヒトDAFの取り込みを抑制したgp64pvの補体抵抗性を解析した。その結果、ヒトDAFの取り込みを抑制したgp64pvは、野生型のgp64pvに比べて補体に感受性を示した。さらに、ヒトDAFを発現させたCHO細胞でヒトDAFを取り込んだgp64rv、および、ヒトDAFを発現させた昆虫細胞やウイルスゲノムにdaf遺伝子を組み込んでヒトDAFを取り込んだバキュロウイルスを作製し、補体抵抗性を解析した。その結果、ヒトDAFを取り込んだgp64rvおよびバキュロウイルスは補体抵抗性を示した。

〔 総 括 〕

GP64を被ったウイルス粒子は、GP64がラフト画分でDAFと相互作用することで、DAFをウイルス粒子へ取り込むことによって補体抵抗性を獲得することが示された。以上の成績から、GP64はウイルス粒子に補体抵抗性を付与できる有用な蛋白質であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

ウイルスベクターによる生体内への遺伝子導入には、補体による不活化が大きな障害となっている。バキュロウイルスのGP64を被ったシュードタイプレトロウイルスベクターが補体抵抗性を示すことが知られているが、その詳細なメカニズムはいまだ解明されていない。そこで、申請者はGP64を被ったシュードタイプウイルスを作製し、補体抵抗性の獲得機構を解析した。その結果、GP64を被ったウイルス粒子は、リピッドラフトを介してCD55/DAFをウイルス粒子中に取り込むことにより、補体抵抗性を獲得することを明らかにした。したがって、GP64はウイルス粒子に補体抵抗性を付与できる有用なエンベロープ蛋白質であることが明らかとなった。以上のことから、申請者の研究は医学領域において価値あるものであり、本医学系研究科からの

学位授与に相当すると考えられる。