The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Evolutionarily Conserved Interaction between the Phosphoproteins and X Proteins of Bornaviruses from Different Vertebrate Species
Author(s)	藤野, 寛
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59784
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【61】

氏　　名	藤　野　　寛（ふじ の かん）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学　位　記　番　号	第　２５８８７　号
学位授与年月日	平成25年３月25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	Evolutionarily Conserved Interaction between the Phosphoproteins and X Proteins of Bornaviruses from Different Vertebrate Species （異なる脊椎動物由来のボルナウイルス間で進化的に保存されたＸとＰ蛋白質の相互作用）
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(Purpose)〕

ボルナウイルス科ボルナウイルス属には、主として哺乳類に感染するボルナ病ウイルス(BDV)、鳥類を宿主とする鳥ボルナウイルス(ABV)、そして爬虫類での感染が見つかった爬虫類ボルナウイルス(RBV)の3つの遺伝子型が存在している。遺伝子型の異なるこれらボルナウイルス属の性状比較は、ボルナウイルスの分子進化のみならず、病原性や宿主域に関して新しい知見が得られるものと考えられる。しかしながら、これまでにこれら遺伝子型のウイルス性状を詳細に比較した報告はない。BDVを用いたこれまでの研究から、BDVのX蛋白質が、ウイルスポリメラーゼのコファクターであるP蛋白質と直接的に結合して、その細胞内局在を変化させることで、ウイルスの転写活性を制御していることが明らかとなっている。そこで本研究では、ウイルスの転写制御に関与するXとP蛋白質に着目し、各遺伝子型間におけるこれらウイルス蛋白質の相互作用について解析を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

４種類の異なる遺伝子型のボルナウイルス（BDV,ABV4, ABV5,RBV）のXとP遺伝子にそれぞれFlagとHAタグを付加した発現プラスミドを作成した。これらのプラスミドを培養細胞に強制発現させ、単独あるいは共発現時の局在を間接蛍光抗体法にて観察した。また、共免疫沈降法によりX蛋白質とP蛋白質の結合を同種あるいは異種の遺伝子型間で検討を行った。さらに、BDVの疑似複製系であるミニレプリコンアッセイを用いて、ABVとRBVのXとP蛋白質がBDVのポリメラーゼ活性に与える影響について観察した。

解析の結果、すべての遺伝子型において、P蛋白質は核にX蛋白質は細胞質に局在した。また、P蛋白質の局在はX蛋白質の存在下で細胞質へと移動した。さらに、すべての遺伝子型において、XとP蛋白質の結合が確認され、遺伝子型間においてXとPの相互作用が保存されていることが明らかとなった。一方、RBVのX蛋白質を除き、異なる遺伝子型間においてもXとP蛋白質は結合することが判明した。ミニレプリコンアッセイを用いた解析の結果、ABVのXとP蛋白質がBDVのポリメラーゼ活性を制御できることが示された。

〔総　括(Conclusion)〕

今回の研究により、ボルナウイルスのXとP蛋白質による転写複製制御機構はボルナウイルスにおいて進化的に保存されていることが示された。これまでの研究から、BDVならびにABV5ではX遺伝子をコードしているmRNAの上流にX蛋白質の発現を制御するuORFと呼ばれる配列が存在していることが明らかとなっている。また、BDVのuORF配列には宿主因子が結合することも明らかになっており、uORFを介したX蛋白質の翻訳制御がBDVの複製に重要であると考えられている。今回の解析において、uORFを持たない遺伝子型（ABV4, RBV）においてもXとP蛋白質の相互作用が確認されたことから、ABV4とRBVではuORFに依存しないX蛋白質の発現制御機構の存在することが示唆された。本結果は、ボルナウイルスの宿主域ならびに異種間伝播を考える上で重要な知見であると考えられた。今後は、実際の感染性ウイルスを用いた実験やuORFに依存しないX蛋白質の発現制御機構など詳細な解析を行うことで、ボルナウイルスの遺伝子型間における病原性についても検討を行いたい。

論文審査の結果の要旨

ボルナ病ウイルス(BDV)はヒトを含む哺乳類全般に感染するウイルスであり、急性感染時にはウマに髄膜脳炎を引き起こすウイルスとして知られている。近年、BDVの属するボルナウイルス属に新たなウイルスとして、鳥類ボルナウイルス(ABV)や爬虫類ボルナウイルス(RBV)が発見されている。ABVの一部は比較的BDVに近い塩基配列を保持しており、このことからABVがヒトを含む哺乳類全般に感染し、人獣共通感染症となりうる可能性が考えられる。本論文において、ウイルスの増殖を調節する因子であるX蛋白質・P蛋白質の細胞内における局在やその結合をボルナウイルス間で比較したところ、その機能は進化的に保存されていることが明らかとなった。X蛋白質・P蛋白質によるウイルスの増殖制御機構はボルナウイルスにおいて共通の機構であると考えられる。本研究では、新たに発見されたボルナウイルスとBDV間の比較検討を行うことで、ボルナウイルス全般に保存された機能を解明しており、今後のボルナウイルスの研究に貢献するものと考えられる。以上のことから本論文は学位論文に値する。