

Title	Novel mutant human immunodeficiency virus type 1 strains with high degree of resistance to cynomolgus macaque TRIMCyp generated by random mutagenesis
Author(s)	Sultana, Tahmina
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/69450">https://hdl.handle.net/11094/69450</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) Sultana Tahmina		
	(職)	氏名
論文審査担当者	主査	大阪大学教授 塩田達也
	副査	大阪大学教授 松浦善治
	副査	大阪大学教授 上田啓次
論文審査の結果の要旨		
<p>HIV・エイズの研究や薬剤開発において、動物モデルが存在しないことは、大きな研究の阻害要因である。本研究ではカニクイザルにおいて効率よく増殖できるHIV-1の作成を試みた。HIV-1阻害因子TRIM5の遺伝子にカニクイザルにおいては高頻度に生じているTRIMCyp変異に着目し、TRIMCypタンパク質が相互作用するHIV-1カプシドの領域にランダム変異導入を行い、TRIMCyp発現細胞において選択を繰り返すことにより、TRIMCypに高度耐性のHIV-1を得ることに成功した。得られたウイルスに生じたアミノ酸変異は4箇所あり、それらを分子クローンに導入したところ、確かにTRIMCypタンパク質によるHIV-1感染阻害から逃避していることが確認され、ウイルスはカニクイザルの末梢血CD4陽性細胞でも増殖可能なことを示すことが出来た。</p> <p>以上の研究結果は博士（医学）の学位授与に値するものと認める。</p>		

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	SULTANA TAHMINA
論文題名 Title	Novel mutant human immunodeficiency virus type 1 strains with high degree of resistance to cynomolgus macaque TRIMCyp generated by random mutagenesis (ランダム変異導入によるカニクイザルTRIMCyp高度耐性HIV-1の作成)
<p><b>Purpose:</b> An antiretroviral factor, TRIM5<math>\alpha</math>, produced by Old World monkeys strongly suppresses HIV-1 replication. A fusion protein comprising cynomolgus macaque (CM) TRIM5 and cyclophilin A (CM TRIMCyp) also potently suppresses HIV-1 replication. However, CM TRIMCyp fails to suppress a mutant HIV-1 that encodes a mutant capsid protein containing a SIVmac239-derived loop between <math>\alpha</math>-helices 4 and 5 (L4/5). There are seven amino acid differences between HIV-1 L4/5 and SIVmac239 L4/5. Here, we investigated the minimum numbers of amino acid substitutions that would allow HIV-1 to evade CM TRIMCyp-mediated suppression. Specifically, we generated novel mutant HIV-1 strains that were resistant to a CM TRIMCyp.</p> <p><b>Methods:</b> We used PCR-based random mutagenesis to construct a library of HIV-1 variants that contained mutations in L4/5. We then applied a functional screen to isolate resistant viruses; specifically, we recovered replication-competent viruses from CD4+ MT4 cells that expressed high levels of CM TRIMCyp</p> <p><b>Results:</b> CM TRIMCyp-resistant viruses were obtained after three rounds of selection in MT4 cells that expressed CM TRIMCyp. Viruses isolated under CM TRIMCyp-selection pressure contained four amino acid substitutions in L4/5 of a capsid protein that is H87R, A88G, P90D, and P93A. These four amino acid substitutions were then confirmed to be sufficient to confer CM TRIMCyp resistance to HIV-1. We also obtained novel CM TRIM5<math>\alpha</math>-resistant HIV-1 strains that were generated via a similar selection method, which required six rounds of selection and rescue cycles. Sequence analysis of CA region of provirus in MT4 cells expressing CM TRIM5<math>\alpha</math> revealed V86A and G116E mutations. V86AG116E mutation conferred partial resistance to CM TRIM5<math>\alpha</math> without substantial fitness cost</p> <p><b>Conclusion:</b> These results suggested that random mutagenesis of live viruses followed by the selection with restriction factors would be useful in understanding detailed molecular interaction between virus and host</p>	