

論文内容要旨

論文題目

The effect of the phosphorylation of the CM2 protein on influenza C virus replication

責任講座：耳鼻咽喉・頭頸部外科学講座
氏名：後藤 崇成

【内容要旨】(1,200字以内)

CM2はC型インフルエンザウイルスの膜タンパク質の一つで、N末端側より細胞外領域(1-23位)、膜貫通領域(24-46位)及び細胞質領域(47-115位)から構成される。CM2はウイルスの増殖に必須であり、ウイルスゲノムのパッケージングや脱殻に関与する。CM2はN結合型糖鎖の付加、リン酸化及びパルミチン酸化等の翻訳後修飾を受けることが明らかになっているが、リン酸化のウイルス増殖に及ぼす影響は明らかになっていない。本研究はCM2のリン酸化がC型インフルエンザウイルスの増殖過程に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

CM2のリン酸化候補部位を置換したCM2変異体を作製した。これらのタンパク質の発現はウェスタンブロットティング及びメタボリックラベリングにより解析した。野生型及びCM2変異体のリン酸化の解析は、 $[^{32}\text{P}]$ を用いたラベル実験により行った。野生型CM2または変異CM2発現プラスミド、8種のウイルスタンパク質発現プラスミドとGFP-vRNA発現プラスミドを293T細胞に導入し、ウイルス様粒子を作製した。ウイルス様粒子中のvRNA量を、リアルタイムPCR法を用いて定量した。ウイルス様粒子をHMV-II細胞に感染させ、GFPタンパク質の発現を蛍光顕微鏡及びウェスタンブロットティングにより解析した。

以上の方法により、CM2のリン酸化がC型インフルエンザウイルスの増殖過程に影響を及ぼすか否かを解析した。

平成 27年 1月 21日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：後藤崇成

論文題目：CM2 タンパク質のリン酸化が C 型インフルエンザウイルスの増殖に及ぼす影響

審査委員：主審査委員 上野義之 (内科学第二講座) □

副審査委員 一瀬白帝 (分子病態学講座) □

副審査委員 欠畑誠治 (耳鼻咽喉科頭頸部外科学) □

審査終了日：平成 27年 1月 21日

【 論文審査結果要旨 】

申請者は、C 型インフルエンザウイルスの第二の膜蛋白である CM2 について、その特徴的なリン酸化部位がウイルス増殖にいかなる役割を果たすかについては知られていない。類縁ウイルスである A 型インフルエンザウイルスの類似の蛋白である M2 については、同部位のリン酸化がウイルス増殖の後期の段階でのウイルス組み込み (packaging) に重要であることがこれまで報告されている。今回の検討で申請者は種々のリン酸化部位を変異させた組み替えを行ない、それを用いたインフルエンザウイルス用の粒子 (VLP) を作成することにより、C 型インフルエンザの増殖過程における前期 (uncoating) と後期 (packaging) の各ステップでの同部位のリン酸化の与える影響を検討した。その結果、packaging 段階ではリン酸化部位の変異は野生型のものとの差がないことが判明した。一方、GFP をレポーターとした uncoating の過程を検討した場合、リン酸化部位の変異体は有意にレポーター蛋白の発現が低いことを見出した。以上より、CM2 タンパク質のリン酸化部位は C 型インフルエンザの前期の増殖過程 (uncoating) に主な作用機構を持つことが想定された。申請者が見いだしたこの CM2 のリン酸化部位の役割は近縁ウイルスである A 型インフルエンザの M2 蛋白と全く異なっており極めて重要な知見であると考えられた。

審査の過程で、実験手法とその解釈に係わる照会があったが、申請者はいずれにも明快に回答し、その論理性に瑕疵を認めなかった。論文作成について幾つかの軽微な修正事項が指摘され (特に Figure. 4 を Table に変更することなど) たが、書き直した上で本審査に当たること対応可能と判断された。また最終試験に際しては、特に研究背景についてより簡明に理解しやすい準備をするように指摘された。

審査員との合議では、博士論文としての水準に十分達しているものと判断された。

(1, 200字以内)