

審査の結果の要旨

氏名 磯貝 まや

本研究はヒト免疫不全症候群（AIDS）の病態に極めて重要な役割を果たしていると考えられるアクセサリ-遺伝子産物 Vpr 蛋白の多様な機能の発現機序を解明するため、Vpr 蛋白と特異的に相互作用する細胞内因子を同定し、機能との関連性の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. yeast two-hybrid 法を用いた Vpr 相互作用因子の検索において、細胞増殖抑制能を完全に消失しているが野生型と同様の局在を示す、且つ予測される重要な機能ドメインを保存している N17C81 欠失変異体を bait として用いることにより、Vpr 結合性 cDNA クローンが得られた。
2. 得られた cDNA クローンの DNA 塩基配列は、Vpr 結合分子として報告されている UNG および HHR23A の他に、未だ報告されていない 3 種類の既知の蛋白質、および 7 種類の EST クローンの塩基配列と一致していた。
3. 得られた cDNA クローンはいずれも yeast two-hybrid 法において野生型 Vpr との結合能を有していた。以上により、細胞増殖抑制能を引き起こす分子の相互作用因子検索において、細胞増殖抑制能を消失するが他の機能は維持されていて、且つ重要な立体構造が保存されている変異体を two-hybrid 法の bait として用いることが、大変有用な手段であることが示唆された。
4. yeast two-hybrid 法において、Vpr は HHR23A の C 末端側 UBA ドメインと結合したのに対し、全長とは結合しなかった。以上により、生体内では全長の HHR23A は Vpr と相互作用しない可能性が示された。
5. 欠失および点変異体を用いた yeast two-hybrid 法により、UBA ドメインとの結合

には Vpr の α -helix 1 の 33 位、および α -helix 2 から leucine zipper 様配列にかけての 67 位および 74 位のアミノ酸残基の保存が特に重要であることが示された。

6. 同様の点変異体を用いた哺乳類細胞における解析から、Vpr の核局在には α -helix 2 から leucine zipper 様配列にかけての 60 位および 67 位に加え、 α -helix 1 の 33 位のアミノ酸残基の保存が特に重要であることが示された。また G2 期 arrest には α -helix 1 前半、60、67 位および特に 74、81 位に加え、 α -helix 1 の 33 位のアミノ酸残基の保存が重要であることが示された。以上により、Vpr の機能発現には、UBA ドメインを有する細胞内因子が、単独あるいは他の分子と共に、それぞれ Vpr の特定の部位と相互作用して関与している、という可能性が示唆された。
7. 哺乳類細胞における HHR23A および UBA ドメインの強制発現は、Vpr により誘導される G2 期 arrest に殆ど影響を与えなかった。以上により、HHR23A および UBA ドメインは Vpr の G2 期 arrest 誘導能に直接は関与しないことが示唆された。

以上、本論文は細胞増殖抑制能を完全に消失する欠失変異体を bait として用いた yeast two-hybrid 法による Vpr 相互作用因子の解析から、新しい Vpr 結合性細胞内因子の存在を明らかにした。さらに、欠失および点変異体を用いた解析から、Vpr が細胞に対して及ぼす多様な作用は UBA ドメインを有する細胞内因子を含む複数の分子が Vpr と相互作用することにより発現されるという可能性を示した。本研究はこれまで明らかになっていない Vpr の多様な機能の発現機序解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。