

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 水谷 壮利

本研究は、レトロウイルスの発現維持に関わる宿主蛋白質を同定し、レトロウイルスベクターのジーンサイレンシングの問題に対し、下記の結果を得ている。

1. レトロウイルスは、Brm を発現しない細胞株へも侵入し、逆転写、挿入、及び遺伝子発現を開始することができるが、その遺伝子発現は急速なジーンサイレンシングを受ける。一方 Brm はあるが BRG1 を欠失する細胞ではこのようなジーンサイレンシングを受けないことを明らかにした。
2. Brm の欠失によるジーンサイレンシングは不連続にかつ確率論的に (stochastic) におこる。すなわち個々の細胞の発現量が低下していくのではなく、発現細胞の比率が減少していく (variegation) ことを明らかにした。
3. Brm を発現しない細胞株に Brm 発現ウイルスを感染すると、その発現は長く維持されるがこれは、BRG1 発現ウイルスでは代替できないことを示した。
4. Brm を含む SWI/SNF 複合体 subfamily は、YY1, ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) を含む Pc-G 複合体がプロウイルス上の 5' -LTR へと動員されることを抑制している。またこの複合体 subfamily の存在は、

5' -LTR 近傍に存在するヌクレオソーム中にあるヒストンH4のLys5, Lys8のアセチル化を特異的に増強することを明らかにした。

5. このジーンサイレンシングは HDAC の阻害剤によりかなり解除されるが、DNA メチル化の阻害剤によっては全く解除されないことを示した。
6. MLV の LTR 中にある YY1 結合配列を壊した Δ YY1 ベクターを構築し、Pc-G による発現抑制を受けにくいベクターの作成を行なった。このベクターを Brm の発現が見られない癌細胞株や human embryonic carcinoma である PA-1 細胞株に導入しその発現維持効果を検討したところ、改良前のベクターに比べ完全な回復は得られないものの、顕著な発現維持の回復を確認した。

以上、本論文は、レトロウイルスの発現維持には宿主因子 Brm が必要であることを明らかにした。また、この発見に基づき構築した Δ YY1 ベクターが EC 細胞において顕著な発現回復を示すことから、今後の長期的な発現維持を担うベクター開発に大きく貢献することが考えられ、学位の授与に値するともものと考えられる。