

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 田中 康雄

本研究は、affinity purification の手法と質量分析計を用いて HBx の新規結合蛋白の同定を行い、その機能について解析したものであり、以下の結果を得ている。

1. GST-pull down の手法と質量分析計(nanoLC/nanoESI/MS/MS)を用いて HBx に結合する新たな宿主蛋白、Heat shock protein 60 (Hsp60)を見出した。
2. HBx と Hsp60 について、両者の細胞レベルでの結合の確認、結合に必要な領域の同定、両者の細胞内での局在を検討した。また、両者の結合の生物学的な意義としてアポトーシスの系を用いて検討し、Hsp60 が HBx と結合することによりそのアポトーシス誘導能を増強することを明らかにした。

以上、本研究は、HBx の新規結合蛋白、Hsp60 を同定し、その HBx との結合に関する生物学的意義について解析したものであることから、学位の授与に値すると考えられる。

尚、審査会時点から、論文の内容中、以下の点が改訂された。

1. 今回実験に用いた銀染色のプロトコールを記載した。
2. 免疫沈降実験データに input の量がわかるようなレーンを加えた。
3. 今回の実験では両者の *in vitro* での結合の検討は行っていない点、HBx の強制発現系でしか両者の結合は確認していない点、また Hsp60 はシャペロン分子であるため HBx との結合には問題点を内在しているという点を踏まえ、考察にその旨記載を加えた。
4. Hsp60 とミトコンドリアの免疫染色の図をさしかえた。
5. 図に TUNEL assay のコントロールとなる空ベクターのデータを追加した。