




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第611号	氏名	磯村 美乃里
審査委員会委員	主査氏名	藤 木 稔 (藤)	
	副査氏名	谷川 雅人 (谷)	
	副査氏名	松本 俊郎 (松)	
論文題目 Near-infrared fluorescent protein iRFP720 is optimal for <i>in vivo</i> fluorescence imaging of rabies virus infection (近赤外蛍光タンパク質 iRFP720 は狂犬病ウイルス感染の <i>in vivo</i> 蛍光イメージングに最適である)			
論文掲載雑誌名 Journal of General Virology			
論文要旨 <p>感染動物におけるウイルス体内動態を非侵襲的かつ経時的に観察できる <i>In vivo</i> イメージング法は、自家蛍光の産生による著しく低 S/N 比が欠点の一方、基質投与不要で狂犬病ウイルス (RABV) 感染のごとく長く不定な潜伏期間中のウイルス存続様式の解明に有効である。長波長蛍光蛋白質を用い RABV 感染の <i>in vivo</i> 蛍光イメージングのための最適条件の比較検討を行った。</p> <p>長波長蛍光蛋白質 Katushka2S、E2-Crimson、iRFP670 もしくは iRFP720 発現の組換え RABV 1088 株のゲノムプラスミドをそれぞれ構築し、各組換えウイルスを定法により作出、各ウイルスの性状の確認試験後、各ウイルスを脳内接種したヌードマウスの頭部蛍光強度の比較解析を、また末梢感染モデルの <i>in vivo</i> 蛍光イメージングを評価した。</p> <p>脳内接種ヌードマウスでは、iRFP720 発現 1088 株感染マウスで最早期シグナル検出し 8 日目の時点においても最高 S/N 比を維持した。右後肢筋肉内接種したヌードマウスでは、脊髄シグナル検出後脳シグナルを検出し、RABV 感染の体内動態追跡に成功した。ただし、ウイルス接種後 12 日目に行った同マウスの <i>ex vivo</i> イメージングでは、感染初期の標的細胞に連絡している大腿神経および坐骨神経の蛍光シグナルを認めたものの、その <i>in vivo</i> 蛍光イメージングはできなかった。これには、レポーター遺伝子の発現量・検出感度・特異度を高めるために挿入位置の変更(今回の G-L 遺伝子間から N-P 遺伝子間へ; 病原性維持不詳)などの検討の余地を残す。</p> <p>最長波長の蛍光を発する近赤外蛍光蛋白質 iRFP720 は RABV や他のウイルス感染の <i>in vivo</i> 蛍光イメージングに適し、免疫応答の発光レポーターマウスを併用すればウイルス-宿主相互作用のマルチイメージングにも適用の可能性を示唆する。</p> <p>本研究は、近赤外蛍光蛋白質 iRFP720 が RABV 感染の <i>in vivo</i> 蛍光イメージングに適最適である意義・その問題点と将来展望を明らかにしたものであり、その価値を考慮し、審査委員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験  
の結果の要旨  
~~学力の確認~~

審査区分 ①・論	第611号	氏名	磯村 美乃里
審査委員会委員	主査氏名	藤木 穂 	
	副査氏名	谷川 雅人 	
	副査氏名	松本俊郎 	
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から、研究の目的・方法・結果・考察について次のような質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 狂犬病ウイルス(RABV)は感染から発症までの時間が大きく異なる理由は何か。RABV同様、感染から発症までの時間が大きく異なるものにはどのようなものがあるか。</li> <li>2. 同様の研究領域において、本法や類似の方法を用いる以前の既報の方法論を概説せよ。</li> <li>3. 長波長蛍光蛋白質を用いたウイルス研究がインフルエンザAのex vivoのみの研究だけで、in vivo研究まで発展しなかった具体的な理由は何か。</li> <li>4. 感染初期のようにウイルスの微量存在時期を可視化する方法について述べよ</li> <li>5. 脳への感染モデルの方法の詳細とその意義を述べよ。</li> <li>6. 脳において光の散乱が特に大きくなる理由は何か。</li> <li>7. Fig. 4におけるS/N ratio測定でROI設定は、大きさや部位等あらかじめ決めた一定の基準に準拠されたものか。この際、ROIの設定次第でS/N ratioの定量値は大きく変動しうること、noiseのバックグラウンド選択に対する配慮は何か。</li> <li>8. 最適であったiRFP720などの長波長蛍光を用いるとどの程度の内部組織を観察可能か。</li> <li>9. 長波長蛍光では蛍光波長の半値幅が広がる影響が測定に影響を及ぼさないか。</li> <li>10. ex vivoイメージング蛍光シグナル陽性でありながら、in vivo蛍光イメージング陰性であった理由を系統的に分析し考察せよ。</li> <li>11. Fig. 7における記載「末梢神経（肋間神経，坐骨神経，大腿神経など）が蛍光シグナルにより明瞭に描出された」の根拠を示せ。</li> <li>12. 本研究の臨床応用への可能性を概説せよ。</li> </ol> <p>これらの質問に対し、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。