

受入大学名	大阪大学		
Host University	Osaka University		
外国人研究者	エムディ ゴルザル ホサイン		
Foreign Researcher	Md. Golzar Hossain		
受入研究者	上田 啓次	職名	教授
Research Advisor	Keiji Ueda	Position	Professor
受入学部/研究科	大学院医学系研究科		
Faculty/Department	Graduate School of Medicine		

<外国人研究者プロフィール/Profile>

国籍	バングラデシュ
Nationality	Bangladesh
所属機関	バングラデシュ農業大学 微生物学・衛生学部
Affiliation	Department of Microbiology and Hygiene, Bangladesh Agricultural University
現在の職名	准教授
Position	Associate Professor
研究期間	2023年9月20日～2023年12月18日90日間
Period of Stay	90 days (09/20/2023 - 12/18/2023)
専攻分野	ウイルス学
Major Field	Virology



Dr. HOSSAIN MD. GOLZAR

<外国人研究者からの報告/Foreign Researcher Report>

①研究課題 / Theme of Research
Investigation on the Hepatitis B Virus Replication by modulating endoplasmic reticulum stress (ER-stress)
②研究概要 / Outline of Research
Firstly, we analyzed the induction of ER stress by HBV replication in HepG2 cells co-transfected with pERAI-Luc, pRL-TK, and pHBI. HepG2 cells were transfected with pHBI and treated them with different concentrations of tunicamycin (tm) and salubrinal (sal), followed by the quantification of intracellular core particles and extracellular virion production using qPCR. Furthermore, stably HBV-producing HB611 cells were to validate the results. Additionally, we investigated the expression profile of HBeAg and HBsAg using ELISA, and core protein and large HBsAg by Western blot techniques. The statistical significance of different data was determined using a paired t-test, and probability values of $p \leq 0.05$ were considered statistically significant.
③研究成果 / Results of Research
ER stress could be induced by HBV replication in transfected HepG2 cells as well as by tm as demonstrated by dual luciferase assay. HBV intracellular core-associated DNA quantified by qPCR has been significantly increased by tunicamycin in transfected HepG2 cells. Inversely, intracellular core associated and extracellular particle DNA has been significantly decreased in a dose-dependent manner in sal-treated HepG2 cells transfected with pHBI. Similar results were found in stably HBV-expressing hepatoblastoma cell. However, increased or decreased ER stress by tm or sal treatment respectively has been confirmed by expression analysis of grp78 using Western blot. The expression of HBV core protein and large HBsAg is increased and decreased by tm and sal respectively.
④今後の計画 / Further Research Plan
In the future, we can generate multiple mutants of the large HBsAg to identify the specific region responsible for inducing ER stress. Furthermore, we can create a replication-defective HBV plasmid lacking the polymerase (p) and a non-structural protein coding gene X plasmid to pinpoint the specific genes responsible for inducing ER stress. Additionally, considering our results, the phytochemicals library can be screened to identify drugs that could potentially be used as anti-HBV agents through the modulation of ER stress.

< 受入研究者からの報告/Research Advisor Report >

①研究課題 / Theme of Research
<p>小胞体ストレス（ERストレス）の調節によるB型肝炎ウイルスの複製に関する研究</p>
②研究指導概要 / Outline of Research
<p>ヒト肝がん由来細胞HepG2を用いて、ERAI-Luc (ER stressモニター用プラスミド)、pRL-TK (トランスフェクション効率用プラスミド)、およびpHBI (HBV産生用プラスミド)を同時にトランスフェクトし、HepG2細胞におけるHBV複製によるERストレスの意義を明らかにする様指導した。トランスフェクトの際、さまざまな濃度のツニカマイシン (tm) (ER stress inducer) およびサルプリナール (sal) (ER stress 阻止剤) で処理し、その後、qPCR を用いて、細胞内コア粒子と細胞外ビリオン内の複製されたHBVゲノム産生量を定量することでER stressのHBV複製の遺伝子発現能に与える影響がわかる。さらに、これらの結果をHBV を安定に産生する HB611 細胞を用いて検証する様指導した。</p>
③研究指導成果 / Results of Research
<p>短い期間に成果を得るには、予め研究およびその実験について正しい理解が必要。今回の来室による研究では、本人が以前の留学時にとったこれまでの結果に固執し、それに合う結果が出ないことに齟齬が生じた。どちらの結果が正しいのか、解釈できる実験を組み立て実施することが必要と思われた。</p>
④留学生交流事業の活動状況 / Activities of International Student Exchange Program
<p>進捗報告のプレゼンテーションとディスカッションセッションに参加し、教室メンバーと意見交換を行った。当教室だけではなく、岡山大学医歯薬学総合研究科病態ウイルス学を訪問し、研究について討論した。また、大阪大学微生物病研究所の3つのウイルス学研究室（渡辺登紀子教授研究室、小林武史教授研究室、塩田達夫教授研究室）の研究進捗セミナーに毎週、積極的に参加し、最先端ウイルス研究に肌で触れるとともに多くを学んだと思われる。小林武史研究室と塩田達夫研究室が主催するジャーナルクラブには毎週Zoomで参加し、最先端研究室が話題にするテーマを実感した。</p>
⑤今後の計画 / Further Research Plan
<p>まず、HBV遺伝子発現・複製でER stressが起こるのかどうか、正確な結果を出すことが求められる。そして、ER stressはHBVライフサイクルに必要なのかどうかを明らかにする。将来的には、種々のHBV変異体を作成し、ER ストレスの誘導に関わるHBV遺伝子を特定する。植物化学物質ライブラリーをスクリーニングして、ER ストレスの調節を通じて抗 HBV 薬として使用できる可能性のある薬剤を同定することも意味があると思われる。</p>



Participation of virology laboratories activities at the Okayama University and Research Institute of Microbial



Participation of virology laboratories activities at the and Research Institute of Microbial Diseases, Osaka University through Zoom platform