



Title	STUDIES ON PROTEINS INDUCED BY CHICK EMBRYO LETHAL ORPHAN (CELO) VIRUS INFECTION
Author(s)	Yasue, Hiroshi
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24453
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	安	江	博
学位の種類	理	学	博 士
学位記番号	第	3868	号
学位授与の日付	昭和	52年3月25日	
学位授与の要件	理学研究科	生物化学専攻	
	学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	CELOウイルス感染によって誘発される蛋白質についての研究		
論文審査委員	(主査) 教 授	倉橋 潔	
	(副査) 教 授	川俣 順一 教 授 佐藤 了 助教授	浅野 朗

論文内容の要旨

CELOウイルスはトリアデノウイルスの1種でこのウイルスの増殖機構及び発癌機構を解析する目的で49種の温度感受性変異株が分離され、そして高温(40°)感染条件下でのウイルス抗原の產生と細胞から核への移行という点に関して粗ウイルス液に対する抗体を用いた蛍光抗体法によりこれらの変異株は5種類に分類されている。その中でgroup IIIに属する変異株(11株)の产生するウイルス抗原は高温感染条件においては細胞内に貯留して核へ移行しないことが知られている。これらの変異株はウイルスの产生する抗原がすべて細胞質内に貯留しているのか、あるいは特定の抗原だけが細胞質内に貯留して他の抗原は核へ移行しているのか、さらに細胞内に貯留している抗原に関して、野生型と変異株の間に差異が存在するかどうかを検索することを目的として以下の実験を行った。

第一歩として放射性アミノ酸を用いてウイルス感染細胞を継時に標識し、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動を用いてウイルス产生蛋白及びウイルス粒子構成蛋白の解析を行った。その結果ウイルス粒子はすくなくとも11種類の蛋白から構成され、ウイルスによって誘発される蛋白はすくなくとも23種類あることが確認された。そのうち8種類はDNA合成阻害剤存在下でも合成された(初期蛋白)。これら8種類の初期蛋白(1種は糖蛋白)は界面活性剤を含んだ緩衝液あるいは高イオン強度の緩衝液を用いてはじめて可溶化されることから、何らかの形で細胞内構造体に会合していると考えられる。残りの15種類の蛋白はDNA合成阻害剤下では合成されなかった。電気泳動の移動度の点からウイルス粒子構成蛋白とウイルスによって誘発される蛋白の間の共通蛋白10種類があることが確認された。

これらのウイルス粒子構成蛋白のうちで2種類の蛋白についてそれぞれに対して抗体を作った。1つはウイルス粒子外殻を構成しているヘキソンに対する抗体であり他の1つは分子量51,000の蛋白(L

51K)に対する抗体である。しかしこの蛋白がウィルス粒子のどこに位置しどのような機能を果しているかは不明である。この2種類の抗体を用いて、変異株(36株)感染細胞を蛍光抗体染色し、高温条件下でのウィルス抗原の産生と局在部位について調べた。ヘキソン抗原の産生及び局在に関してはすでに報告されている分類結果とほぼ一致した。しかしL51K抗原の産生及び局在に関してはヘキソンの場合とかなり異っており、ヘキソン抗体による結果とL51K抗体による結果の間に相関関係は認められなかった。1変異株(ts10, group III)を除いてここで調べた変異株はすべてL51K抗原を産生していることが確認された。その中の3株においてはL51K抗原が細胞と核に見られ他の32株(group III変異株を含む)では核に認められた。以上のことからgroup IIIの変異株では産生されたウィルス抗原すべてが細胞内に貯留しているのではなくて核へ移行している抗原もあること、そしてすくなくともヘキソン抗原は細胞質に貯留していることが明らかとなった。従ってgroup IIIに属する変異株でヘキソン抗原の細胞質から核への移行に関して相補的関係にある変異株2種(ts8とts10)を用いて、細胞質に貯留しているヘキソン抗原の性状を生化学的及び免疫学的手法を用いて解析を行った。その結果ts8に関しては、ヘキソン抗体を用いた蛍光抗体法で調べた限りでは単位面積当たりの感染細胞の数あるいは感染細胞の示す蛍光強度においてはあまり差異は認められなかったにもかかわらず上記の方法ではヘキソン抗原を検出できなかった。一方ts10に関してはts8と対照的でヘキソンポリペプチドの産生量、ヘキソン抗原の産生量、感染細胞からヘキソン抗原の抽出のされ方、蔗糖密度勾配遠心によるヘキソン抗原の沈降速度の点においては野生型との間に差異は認められなかった。

論文の審査結果の要旨

ヒトアデノウィルスとは異なり、腫瘍原性トリアデノウィルスに関しては、その構成蛋白質、或いは感染細胞に於て誘発される蛋白質の種類等について、十分の知見が得られていない。又、感染細胞のリボソーム上で合成されたウィルス蛋白が、如何にしてウィルス粒子形成の場、核へと運搬されるかというウィルス産生機構解明の重要な課題は、現在、全く未知の分野に属する。

安江君の論文は、第一部に於て、トリアデノウィルスの一種であるCELOウィルスを構成する蛋白質、及び同ウィルスの感染した細胞で産生される初期、後期蛋白質を、 $[^{35}\text{S}]$ 、或いは $[^{14}\text{C}]$ アミノ酸によって標識し、SDSポリアクリラミドゲル電気泳動法とオートラジオグラフィー法を用いて解析し、ウィルス粒子は11種の蛋白質から構成され、又ウィルスによって誘発される初期蛋白質は8種類、後期蛋白質は15種類に分類されることを明かにし、その各々の概算分子量の算定を行った。第二部に於ては、第一部で同定されたウィルス蛋白のうち、粒子の形成に関与する2種類の蛋白質のそれぞれに対する所謂「因子抗血清」を作製し、その特異性を、免疫化学的手法を組み合わせて吟味、確認し、この抗血清を用いて、ウィルスの温度感受性変異株4グループ、36株について、感染細胞中でのウィルス蛋白の産生と分布を解析した。その結果、このウィルス粒子外殻の主要蛋白質であるヘキソン蛋白が、細胞質内に貯留して核に運搬されない変異株でも、他のウィルス蛋白、L51Kは正常に運搬さ

れ、核に蓄積されていることが明らかになり、更にヘキソン蛋白貯留変異株の少くとも一種の產生するヘキソン蛋白そのものには、野生株のヘキソン蛋白との間に沈降係数等に関して特に明かな相違のないことを確認し、ヘキソン蛋白の核への運搬には、特別な制禦機構が存在することを示唆する結果を得た。

以上安江君の論文はトリアデノウイルスの感染増殖機構のみならず、蛋白質の細胞質から核への輸送機構という総括的な問題に関して、重要な基礎的知見を加え、今後の研究に道を開いたもので、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。