

Title	Gamma Ray Inactivation Analysis of Infective particles in von Magnus type Incomplete Preparation of Influenze Virus
Author(s)	吉舌, 鉄男
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28325">https://hdl.handle.net/11094/28325</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【 53 】

氏名・(本籍)	吉 舌 鉄 男
	よし した てつ お
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 192 号
学位授与の日付	昭和 36 年 3 月 23 日
学位授与の要件	医学研究科社会系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	Gamma Ray Inactivation Analysis of Infective particles in von Magnus type Incomplete Preparation of Influenza Virus
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教授 関 悌四郎 教授 奥野 良臣 教授 天野 恒久

論 文 内 容 の 要 旨

目 的

インフルエンザ標準型ウイルスの標品を得るには標準型ウイルスの 1 乃至 100EID<sub>50</sub> を孵化鶏卵に接種し継代する。一方非稀釈のまま原液継代を続けると粒子の大部分が赤血球凝集性を保ちながら感染・増殖の機能を持たない所謂 von Magnus 型不完全粒子が形成され原液継代第 3 代の標品はこの型の粒子によって占められるに至るが、その標品の感染性は完全に零とはならない。

これらの不完全粒子の研究はウイルス増殖の一異常型の研究としてウイルスの宿主細胞内増殖の機序を解析するための有力な手懸りとなり得ると考えられる。

ここには主として不完全粒子標品の感染価の低下と RNA 量推移の問題として極めて重要でありながら従来全く不明であった不完全粒子標品中に残存する感染性を検討し標準型ウイルスとは異なる性状をもった感染性粒子の存在をγ線不活化に依って証明し、Lea により確立された標的理論に従いその構造上の特徴を解析した。

方 法

Virus : インフルエンザウイルス A 型 PR 8 株

不完全ウイルス標品の作製 : von Magnus の方法に倣ひ原液継代第 2 代 (U<sub>2</sub>) , 第 3 代 (U<sub>3</sub>) を不完全ウイルス標品として実験に使用。

感染価及赤血球凝集価の測定 : 試料の 10 倍稀釈段階毎に 5 乃至 7 個の 11 日卵に接種し Reed-Muench 法に従い 50% 感染価 (EID<sub>50</sub>) を測定, 赤血球凝集価は Salk 法によった。

γ線照射 : 東芝 MI-102 型 Co<sup>60</sup> 照射装置に特別な遠隔操作装置を用い, 試料の照射距離を一定とした。本研究に於ける照射強度は 5950r/分であった。

蔗糖濃度勾配法に依るウイルスの分劃 : 10.18.23.27.35% の 5 種の蔗糖液 (0.14M の NaCl を含む)

を用い SpincoE 超遠心機及び SW39rotor を用いて、12590rpm.90分超遠心後遠心管内容を上部から底部に向って8つの等量分割に分った。

(成績)

1. 標準型ウイルスの $\gamma$ 線不活化に於ける生残曲線は  $n/n_0 = e^{-\alpha D}$

( $n/n_0$ : 生残率  $\alpha$ : PR 8 株に固有の恒数  $D$ : 照射量) なる one hit curve の式で表され、標的直径は  $35m\mu$  と計算された。

2. 不完全粒子標品  $U_2$  及び  $U_3$  に含まれる感染性粒子の生残曲線は multiple hit 型の曲線に近く標準型ウイルスとは異なる。

3a. 蔗糖濃度勾配法に依る遠心分割実験に於いて標準型ウイルスの感染価と赤血球凝集価の両者は共に第5分割 ( $F_5$ ) に局在して鋭い Peak を示した。不完全粒子標品では両者の位置的解離が著明であり、上層分割には赤血球凝集性のみを有する非感染粒子が主として存在し、感染性粒子は下層分割に集中して存在する。

3b.  $\gamma$ 線照射によって第四分割 ( $F_4$ ) は one hit 型生残曲線を第7分割 ( $F_7$ ) は one hit 型と multiple hit 型の合成曲線に近い生残曲線を示した。

3c. 同じく  $U_3$  の第5, 第6分割 ( $F_5, F_6$ ) の生残曲線は共に典型的な multiple hit 型, 即ち  $n/n_0 = 1 - (1 - e^{-\alpha D})^m$  なる multiple hit の理論曲線に一致した。ここに  $m$  は1個の粒子を不活化するに要する $\gamma$ 線の衝撃数を表す。生残曲線の傾斜から標的直径は標準型ウイルスの場合と同様の値が示された。

3d. 標準型ウイルスの第5, 第6, 第7分割 ( $F_5, F_6, F_7$ ) の生残曲線は何れも one hit 型であり, multiple hit 型の不活化傾向は全く見られなかった。

4. 不完全ウイルス標品中の感染性粒子を限界希釈で継代するとその progeny は継代第1代から標準型ウイルスに等しい感染価対赤血球凝集価の値を示す。

5. 標準型ウイルスの抗血清を用いた赤血球凝集抑制試験では不完全ウイルス標品と標準型ウイルス標品との差異を認める事は出来なかった。

総括

インフルエンザ標準型ウイルスの $\gamma$ 線不活化の実験から求められた生残曲線は one hit 型であり標的理論の計算から直径  $100m\mu$  の粒子 (電子顕微鏡に依る測定) の内部に球型と見做して直径約  $35m\mu$  の感染・増殖に必須な構造単位を唯一個所有していると考えられる。これとは対照的に不完全粒子標品中に含まれる感染性粒子の生残曲線は multiple hit 型であり, その感染性は標準型ウイルスとは異った構造或は性状に依存すると考えられる。蔗糖濃度勾配法によって不完全粒子標品は赤血球凝集価と感染価の分布から数個の分割に分ちうるが, その感染性の大部分は典型的な multiple hit 型生残曲線を示す分割に含まれ, これらの感染性粒子は従来知られている感染性粒子とは全く異り, 一粒子の内部に幾つかの感染性を担った構造単位を内蔵しているであろうと結論する。

### 論文の審査結果の要旨

Influenza Virus の原液継代に際して出現する von Magnus 型不完全粒子の研究はウイルスと宿主細

胞との相互作用の解析に有力な手懸であったのみならず、又 Influenza Virus の感染増殖の機能が RNA 蛋白と密接に関連していることを示唆するに役立って来た。

著者はこの不完全標品が尚相当の感染性を有することに疑問を抱き  $\text{Co}^{60}$  を源とする  $\gamma$  線に依り不完全標品中の残存感染性粒子の不活化実験を行ない。標的理論を適用して、それ等が標準型ウイルスとは全く異なった性状を有することを証明し、更にその粒子の構造上の特性を追求した。

その結果を要約すれば、標準型ウイルスの生残曲線は one hit 型であり、直径  $100\text{m}\mu$  (電子顕微鏡に依る測定) の粒子の内部に球型と見做して直径約  $35\text{m}\mu$  の感染・増殖に必須な構造単位を唯一個所有していると考えられる。これとは対照的に不完全ウイルス標品中に含まれる感染性粒子の生残曲線は multiple hit 型であり、その感染性は標準型ウイルスとは異なった性状或は構造に依存すると考えられる。更に確認実験として行なわれた蔗糖濃度勾配法による超遠心分割に依って単一分割化された不完全標品中の感染性粒子の不活化実験の結果は典型的な multiple hit 型の理論生残曲線と一致し、この結論を支持している。

以上の結果から不完全標品中には、従来知られている感染性粒子とは全く異った型のものが出現することが見出されたのである。

Phenol 法に依って抽出されたウイルス RNA が感染増殖の機能を持つことが、明らかにされている現在、ウイルス粒子の構成とその機能との関連を追求する研究の発展は、めざましい一つの流れであるが、本研究は種々の動物ウイルス研究の方法論的な困難さを放射線生物学の導入に依って克服し、インフルエンザウイルスの一つの新しい感染型に関する知見を見出すことによって、医学並びに生物学の発展に意義深い貢献を行ったものとする。