



Title	アデノウイルス12型感染人胎児腎及びハムスター腎細胞におけるDNA合成
Author(s)	大中, 延彦
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29951">https://hdl.handle.net/11094/29951</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">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	おお 大 なか 中 みち 通 ひこ 彦
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1804 号
学位授与の日付	昭 和 44 年 9 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	アデノウイルス12型感染人胎児腎及びハムスター腎細胞に 於けるDNA合成
論文審査委員	(主査) 教 授 奥野 良臣 (副査) 教 授 釜洞醇太郎 教 授 加藤 四郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

非腫瘍性 DNA 型ウイルスである pox group および herpes group のウイルスは感染後すみやかに cellular DNA の合成を阻害するが、腫瘍性 DNA 型ウイルスである SV<sub>40</sub>, polyomaウイルスが細胞に感染した場合には lytic infection でも abortive infection でも cellular DNA の合成を induce することが報告されている。同じく DNA 型腫瘍ウイルスであるアデノ12型ウイルスがcellular DNA 合成を induce する能力を有しているかどうか、逆にいえば cellular DNA を induce する能力は腫瘍ウイルスに共通する性質であるかどうかはウイルスによる発癌のメカニズムを研究する上に興味ある問題と思われる。私はアデノ12型ウイルスを用い lytic infection をおこす人胎児腎細胞, abortive infection をおこすハムスター腎細胞の両細胞において感染後の DNA 合成の様相を主として membrane-filter を用いた DNA-DNA hybridization 法によってしらべた。

### 〔方法および成績〕

- 1 アデノ12型ウイルス (Ad12) を人胎児腎細胞および newborn および adult ハムスター腎細胞に感染させ、一定時間ごとに cell 中のウイルスの定量および H<sup>3</sup>-thymidine の DNA へのとり込みをしらべた。H<sup>3</sup>-thymidine の DNA へのとり込みは感染後の一定時間に培養液に 2  $\mu$ c/ml の H<sup>3</sup>-thymidine を加え 2 時間 incubate したのち細胞をよく洗い TCA 不溶性部分中の DNA をカウントした。
- 2 DNA-DNA hybridization の目的には高度の labelling が必要なため 20  $\mu$ c/ml の H<sup>3</sup>-thymidine を用いた。2 時間 labelling したのち DNA を pronase, SDS, フェノール法により抽出した。

一方 cell および virus DNA を抽出し RNA を除去し、100°C で10分加熱後急冷により一本鎖 DNA として membrane filter (Millipore 25mm) に乾燥固定した。hybridization には labelled DNA を超音波処理により細片とし、さらに 100°C で加熱後急冷により変性させその一定量を membrane 上に固定した virus または cell DNA に加え、60°C で24時間 annealing をおこさせ洗滌後 filter 上に anneal された labelled DNA 量をカウントした。

#### 成 績

- 1 人胎児腎細胞における Ad12 の増殖は感染後20時間頃からウイルスの増加がみられ 48~60 時間頃で最高に達している。ハムスター腎細胞ではウイルスの増殖はみられなかった。
- 2 人胎児腎細胞およびハムスター腎細胞ともウイルス感染後16時間ぐらいから  $H^3$ -thymidine の DNA へのとり込みの増加がみられ、32時間ぐらいで最高に達し、非感染細胞に比し人腎細胞で4~6倍、ハムスター腎細胞で3~5倍に達している。新生ハムスター腎細胞および成熟ハムスター腎細胞の間には感染後  $H^3$ -thymidine の DNA へのとり込みについては本質的な差異はみられなかった。
- 3 hybridization test の予備実験として virus DNA 自身および cell DNA 自身の annealing の効率をしらべたところ virus DNA では最高50~60%, cell DNA では最高30%程度であったが、加えられた量と anneal された量との間には一定の直線関係が成り立ち定量的実験の可能なことが示された。

hybridization test を用いて行なった viral および cellular DNA 合成の時間的経過は次のとおりである。Ad12 感染人胎児腎細胞においては viral DNA 合成は16時間ぐらいから増加しはじめ、32時間ぐらいで peak に達する。一方 cellular DNA 合成は16~18時間頃一時的に増加し以後減少しているが viral DNA の合成されている間続いており急激な抑制はみられない。

Ad12 感染ハムスター腎細胞においては cellular DNA 合成の増加が主としてみられ32時間頃 peak に達している。viral DNA 合成は感染の初期(18時間頃)少量みられるにすぎない。

#### 〔総 括〕

- 1 人胎児腎細胞に Ad12 が感染するとウイルスの増殖およびDNA 合成の増加がみられる。viral DNA 合成は16時間ぐらいからはじまり32時間頃 peak に達する。cellular DNA 合成は初期(16~18時間頃)一時的に増加し、以後抑制されながらかなり長い時間遅延しており急速な抑制はみられない。
- 2 ハムスター腎細胞に Ad12 が感染するとウイルスの増殖はみられないが DNA 合成の増加はおこる。この増加は主として cellular DNA 合成の増加であり viral DNA 合成は初期に少量おこっているにすぎない。
- 3 以上の結果より Ad12 は lytic infection においても abortive infection においても cellular DNA 合成を induce することが明らかとなった。

## 論文の審査結果の要旨

DNA 型腫瘍性ウイルスである polyoma, SV<sub>40</sub> ウイルスは細胞に感染した場合 cellular DNA 合成を induce することが従来報告されている。同じく DNA 型腫瘍ウイルスであるアデノ12 型ウイルスを用い著者は lytic infection をおこす人胎児腎細胞, abortive infection をおこす ハムスター腎細胞の両細胞において感染後の DNA 合成の様相をしらべ, どちらに於いても cellular DNA 合成が induce されていることを実証した。

この結果により DNA 型腫瘍ウイルスはすべて cellular DNA 合成を induce する能力を有していることが明らかとなったがこの事実はウイルスによる発癌機構を解明する上に重要な貢献と思われる。