



Title	ポックスウイルス感染細胞における蛋白及びRNA合成の部位に関する研究
Author(s)	阪上, 賀洋
Citation	大阪大学, 1974, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31141
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【1】

氏名・(本籍)	坂 ^{さか} 上 ^{うえ} 賀 ^{よし} 洋 ^{ひろ}
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 3130 号
学位授与の日付	昭和 49 年 5 月 10 日
学位授与の要件	医学研究科病理系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	ポックスウイルス感染細胞における蛋白及び RNA合成の部位に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 加藤 四郎 (副査) 教授 奥野 良臣 教授 田中 武彦

論文内容の要旨

〔目 的〕

DNAウイルスであるポックス群ウイルスは、共通した特徴として、感染細胞の細胞質内に“B”型封入体(BI)を形成するが、一部のものは、更に“A”型封入体(AI)をも形成する。ポックスウイルスのDNA合成はBIで行われることが既に明らかにされているが、ウイルス感染に伴うウイルスmRNA、ウイルス蛋白の細胞質における合成部位については殆ど報告がない。著者は、BI及びAIと蛋白質及びRNA合成との関係を明らかにするために以下の実験を行った。

〔方 法〕

1) ウイルスの感染。使用したウイルスは牛痘ウイルス LB red株(Av⁻)、牛痘ウイルス CP58株(Av⁺)及びワクシニアウイルス池田株である。Leighton管中でカバースリップ上に単層培養したFL細胞に、ウイルスを37℃ 2時間吸着せしめた後、37℃で培養を続け、経時的に一部の標本を取出して固定、染色し、多数の細胞に封入体が認められる時期に、以下の方法で標識実験を行った。

2) 標識実験。ウイルス感染細胞の蛋白合成をみるには、³H-leucine(³H-leu)又は³H-lysine(³H-lys)を使用し、RNA合成をみるには、³H-uridine(³H-UR)を使用した。標識時間は、アミノ酸が1分、³H-URは2分行ったが、何れもその一部は更に30分 chaseを行った。

3) autoradiography(AR)。採取した細胞標本は、すべてメタノール固定後、2%過塩素酸処理を行い、サクラ NR-M₂による dipping ARを行った。露出時間は、4℃ 7日間である。後染色には Giemsa 染色を行った。

〔成 績〕

1) 牛痘ウイルス感染細胞における蛋白合成

牛痘ウイルス (LB red株) 感染細胞を ^3H -leu 又は ^3H -lys で 1 分間標識すると、標識アミノ酸は大部分の細胞に取込まれており、しかも細胞内全体に分布していた。BI 上には他の細胞質よりも高密度な銀粒子の集積を認めた。AI においては、その円周上にかなり多くの銀粒子が認められたが、AI 内部には殆ど取込みが認められなかった。1 分標識後 30 分 chase すると、BI に於ては、更に顕著な銀粒子の集積が認められた。又 AI については銀粒子の集積は極めて著しく、その内部に充滿して認められた。以上の結果、BI においてウイルス蛋白合成が行われていること、又 BI 外の細胞質で合成され、BI へ搬入されるものも多いこと、AI については、その周辺部で合成された蛋白が、AI 内部へ運ばれることが明らかになった。

2) ポックスウイルス感染細胞における RNA 合成

ワクシニアウイルス池田株感染細胞を ^3H -UR で 2 分間標識すると、BI に高密度に取込みが認められ、BI 以外の細胞質には殆ど認められなかった。又感染細胞核に於ては、感染の発展に伴い銀粒子の取込みが抑制されていくことが認められた。BI への取込み密度は小さな BI の方が大であったが、取込み量に於ては、逆に大きな BI において大であった。2 分標識後 30 分 chase すると、感染細胞の BI 以外の細胞質、核共に銀粒子の取込み量、密度の増加が認められたが、BI に於ては減少が認められた。牛痘ウイルス LB red株を用いた実験に於ても、以上の結果とほぼ同様の結果を得たが、AI は、2 分間標識により、その円周上に少数個の銀粒子が認められ、30 分 chase によっても特に変化を認めなかった。

以上の結果から、ポックスウイルスの mRNA は BI で合成され、遂次 BI 外の細胞質へ移行することが明らかになった。

〔総括〕

1) ポックスウイルス感染細胞の BI に於て、ウイルス蛋白合成が行われていることを示した。又同時に BI 外の細胞質で合成され、BI へ搬入されるものを認めた。AI は、その蛋白を周辺部で合成し、次で同部へ搬入することが証明された。

2) 又、感染細胞の BI に於て RNA 合成が行われていることを示した。又、chase によって、この RNA は BI から細胞質へ移行することが示された。

3) ポックスウイルス感染細胞に於ては、RNA 及び蛋白合成は共に感染の進展に伴い緩徐に抑制されることを認めた。

論文の審査結果の要旨

動物ウイルスの感染病理学において、最も顕著で特徴的な現象は、ウイルス封入体の形成である。ポックスウイルス (PV) 感染細胞には、細胞質内に B 型封入体 (BI)、一部のウイルスは、この他に A 封入体 (AI) も形成する。これら封入体と、DNA 合成やウイルス抗原との関係については明らかに

されているが、RNA及び蛋白合成との関係については、殆ど報告をみない。この研究は、高濃度の ^3H 標識アミノ酸及びウリジンをを用いて短時間の標識実験と標識物質の chase 実験を行ない、これを auto-radiography によって研究したものである。その結果、PV感染細胞の BI に於てウイルス蛋白合成が行なわれていること、又同時に BI 外の細胞質で合成されて BI へ搬入されるものが存在すること、AI を構成する蛋白は、その周辺部で合成され、次で内部へ搬入されることなどが明らかになった。又感染細胞の BI に於て RNA 合成が行なわれていること、この RNA は chase によって周囲の細胞質へ移行することが示された。又、PV感染細胞に於ては RNA 及び蛋白合成は感染の進展に伴い緩徐に抑制されることが示された。

本研究は、PV封入体と、RNA 及び蛋白合成との関係を明らかにしたものであり、ウイルス感染病理学上重要な知見を加えたものと考ええる。