The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 濃厚継代したトリ肉腫ウイルスRNAの解析 |
| Author(s) | 那須, 正夫 |
| Citation | 大阪大学, 1979, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/32144 |
| 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

【18】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 那(な) 須(す) 正(まさ) 夫(お) |
| 学位の種類 | 医学博士 |
| 学位記番号 | 第 4566 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和54年3月24日 |
| 学位授与の要件 | 医学研究科 病理系専攻<br>学位規則第5条第1項該当 |
| 学位論文題目 | **濃厚継代したトリ肉腫ウイルスRNAの解析** |
| 論文審査委員 | (主査)<br>教授 加藤 四郎<br>(副査)<br>教授 豊島久真男 教授 松原 謙一 |

## 論文内容の要旨

〔目 的〕

トリ腫瘍ウイルスのゲノムRNAは，''a'' subunit RNA (39S) または''b'' subunit RNA (35s) のdimer である。"a" subunit は肉腫ウイルス中に見い出され，''b'' subunit は介助ウイルスや transformation defective (td) mutant 中に見い出される。

しかしながら，クローニングされていない肉種ウイルス中には，''a'' subunit 以外に"b" subunit も存在しているが，td mutant が自然発生的に出現するため，この''b'' subunit はtd mutant に原因するのではないかと推察されてきた。

このようなdeletion mutant やウイルスの遺伝子の解析を目的として，クローニングした肉種ウイルスを濃厚継代し，そのRNAを分析し，濃厚継代がウイルスにどのような影響を与えるのかを検討した。

〔方法ならびに成績〕

(1) トリ肉腫ウイルスQV2 (以下QV2) およびラウス肉腫ウイルスプラーグA株 (以下PR－A) をクローニングし，2.1%ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により，そのRNAが''a'' subunit であることを確認したウイルスを出発材料とした。

(2) 各々のウイルスを，ニワトリ細胞およびウズラ細胞において3代の濃厚継代を行なった後，同様にしてそのRNAを分析した。QV2はニワトリ細胞においてもウズラ細胞においても，そのRNAに大きな変化は見られなかったが，PR－Aではニワトリ細胞においてもウズラ細胞においても，

“a” subunit RNA以外にheterogeneous なRNAが出現した。

(3) ウズラ細胞で3代の濃厚継代を行なったPR－Aを，ウズラ細胞に感染させ，個々のフォーカスを分離培養し，そのRNAを分析したところ，“a” subunit のみからなるもの（ud 3－1，ud 3－2）およびheterogeneous なもの（ud 3－3）に分れた。

(4) ud 3－3をさらにウズラ細胞に感染させクローニングし，各々のクローンのRNAを分析すると“a” subunit のみからなるもの，“a” “b” 両方のsubunit からなるもの，およびheterogeneous なものに分れた。

(5) “b” subunit を持つクローンからも，td mutant を分離することはできなかった。

(6) 正常ニワトリ細胞やウズラ細胞で，フォーカスを形成しない程度にまで希釈したud 3－3を，td B77を感染させたニワトリ細胞や，RAV－60を感染させたウズラ細胞に感染させたところ，フォーカスが出現した。このようにして得られたフォーカスより産生しているウイルスを，infective center assay によって分析したところ，replication defective （rd） mutant の存在が確認された。

(7) ud 3－3のRNAは，QV 2より得たウイルスcDNA total とhybridize し，heterogeneous なRNAはウイルス由来であった。また，このheterogeneous なRNAは，肉腫遺伝子（src）に対するcDNAsrc ともhybridize したので，src sequence を保持していることが明らかとなった。

〔総　括〕

(1) PR－Aを濃厚継代することにより，そのゲノムRNAはheterogeneous になった。

(2) heterogeneous なRNAは希釈感染やクローニングにより減少したが，“b” subunit は比較的安定であった。

(3) heterogeneous なRNAはcDNA total のみならずcDNA src ともhybridige し，濃厚継代により生じた不完全RNAは，src sequence を保持していた。

(4) 不完全RNAを持つウイルスの中には，td B77やRAV－60を介助ウイルスとしてフォーカスを形成することができるものがあり，replication defective mutant の存在が確認できた。

濃厚継代を行なったウイルスより，rd mutant を分離することができたが，td mutant を分離することはできなかった。従来，肉腫ウイルス中に存在する“b” subunit はtd mutant に原因するものと推察されてきたが，本実験により，“b” subunit の出現は必ずしもtd mutant によるものではないことが明らかとなった。

濃厚継代により種々のdeletion mutant を得ることができ，このような現象を詳細に解析していくことにより，deletion mutant の出現機構が明らかとなり，さらにはトリ肉腫遺伝子の解明に役立つものと考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

本論文は，トリ肉腫ウイルスを濃厚継代するとheterogeneous なRNA を持つ不完全ウイルスが生じ，このウイルスストック中に増殖能欠損ウイルスが含まれていることを示した。更に，漠然とトランスフォーム能欠損ウィルスに由来すると推察されてきた肉腫ウイルスストック中の“b” subunit の性質を検討し，その出現過程と欠損部位について従来の定説が誤っていることを指適した。

以上の研究は，トリ肉腫ウイルスのin vitro 継代中におこる変化について新知見を提出したのみでなく，新しい型の変異ウイルス研究の基礎を開いた。