

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32144">https://hdl.handle.net/11094/32144</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">〈a href="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">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	那 須 正 夫
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 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) 教授 加藤 四郎 (副査) 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腫ウイルス中には、“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腫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 QV 2 (以下 QV 2) 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。QV 2 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cDNA src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hybridize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イ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。