

Title	ポックスウイルスの赤血球凝集素に関する免疫学的、 生化学的同定
Author(s)	生田, 和良
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32146
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 2 】

氏名・(本籍)	生 田 和 良
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 4 5 5 0 号
学位授与の日付	昭 和 5 4 年 3 月 2 4 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	ポックスウイルスの赤血球凝集素に関する免疫学的, 生化学的 同定
論文審査委員	(主査) 教 授 加藤 四郎 (副査) 教 授 高橋 理明 教 授 豊島久真男

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

ワクシニアウイルス感染により赤血球凝集素 (HA) が産生されることは, Nagler (1942) により初めて見出された。最近, Weintraub and Dales (1974) や Ichihashi (1977) により, その HA 特異成分の生化学的同定が試みられた。しかし, いずれも, その同定された HA 成分の血清学的性状については不明である。本研究の目的は, HA 産生株 (HA⁺), HA 非産生株 (HA⁻) 感染細胞の比較研究により, HA の抗原性と其の生物活性を共に兼ね備えた HA 特異成分を, 免疫学的, 生化学的に同定することにある。

〔方 法〕

- 1) ウイルス: HA⁺ウイルスとして, ワクシニアウイルス (VV), IHD-J株, Lister株そして牛痘ウイルス (CV), LB red株の 3 株・HA⁻ウイルスとして, VV, IHD-W株そしてショープ線維腫ウイルス (SV), OA株の 2 株を用いた。
- 2) 細胞: ウサギ腎細胞に由来する RK₁₃株細胞を用いた。
- 3) ニワトリ赤血球 (CRBC): 白色レグホンの HA 感受性赤血球を用いた。
- 4) HA 粗分画の調製: Ichihashi法 (1977) により得られる細胞膜分画を用いた。
- 5) 抗HA血清: VV, IHD-J株感染細胞から得られる HA 粗分画で家兔を免疫し, 得られた抗血清を VV, IHD-W株感染細胞で反復吸収したものを抗HA血清として用いた。
- 6) 間接免疫沈澱法 (IPT): ウイルスを細胞当り 10PFU または 10FFU で感染し, 放射性同位元素で標識した。標識細胞は, 界面活性剤存在下で超音波処理にて可溶化した。その超遠心上清を可溶化

抗原として用いた。IPTは、Kessler法(1975)に準じた。

7) SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE):Maizel法(1971)に従った。標識バンドの検出には、Bonner and Laskey(1974)のフルオログラフィー法に従った。

[成 績]

1) IPTによる解析

可溶化抗原と抗HA血清との間にIPTを行ない、その反応成分をSDS-PAGEにて解析した。すべてのHA⁺ウイルス感染細胞にのみ認められ、HA⁻ウイルス感染細胞には認められない成分として、分子量約41,000(41K)、85,000(85K)が同定された。この41K成分は¹⁴C-leucine,³⁵S-methionine,¹⁴C-amino acid mixtureで標識されるが、¹⁴C-glucosamineでは標識されなかった。一方、85K成分は¹⁴C-glucosamineで強く標識されるが上述のような放射性アミノ酸では標識されなかった。しかし、pronaseに感受性があるので、この85K成分は、微量のpeptideを持つ糖タン白と思われた。

41Kと85K成分は、Ara C存在下では合成されず、ウイルス誘導後期産物と考える。そこで、精製ウイルス粒子構成成分であるか否かを解析した。VV. IHD-J株感染細胞を上記のような放射性物質で標識した後、Joklik法(1962)に準じ、ウイルス粒子を精製した。ウイルス粒子のSDS-PAGE解析により、41K成分は認められたが、85K成分は認められなかった。

2) CRBCへの吸着成分の解析

ウイルス感染細胞を¹⁴C-leucineまたは¹⁴C-glucosamineで標識後、HA粗分画を分離した。VV. IHD-J株感染細胞から得られるHA粗分画は、2,560 HA unitsを示したが、VV. IHD-W株感染細胞から得られるHA粗分画には、HA活性を認めなかった。このHA粗分画を、CRBCと室温、2時間反応させた。反応後のCRBC除去上清のHA活性は、VV. IHD-J株の場合40 unitsに減少していた。このCRBCへの吸着成分をSDS-PAGEにて解析した。41K、85K成分はいずれも、それぞれ¹⁴C-leucine,¹⁴C-glucosamine標識で認められた。更に、CRBCに吸着した成分が、抗HAにより解離するか否かを検討した。上述のように、VV. IHD-J株感染細胞から分離されるHA粗分画とCRBCとを反応させた後、そのCRBCを抗HA血清と4℃、12時間反応させた。CRBCから解離してくる成分をSDS-PAGEで解析した。41Kと85K成分は、いずれも抗HA血清添加により、特異的に解離して来た。

[総 括]

以上の結果により、41Kと85Kの両成分が、HAの抗原性とその生物活性を共に保有するHA特異成分として同定された。この両成分は、ウイルス誘導後期産物であった。41K成分はタン白であり、ウイルス粒子中にも認められた。一方、85K成分は糖タン白であり、ウイルス粒子中には認められない成分であった。

論 文 の 審 査 結 果 の 要 旨

本研究はワクシニアウイルス(VV)IHD株の赤血球凝集素(HA)産生株、およびHA非産生株を

主として用い、HAの免疫学的、生化学的同定を行ったものである。その結果、85Kと41K両成分が同定され、85Kは糖タン白でvirion中には見出されないが、41Kは糖を含まないタン白でありvirion中にも認められることなどを明らかにした。本研究は、VV HAの生物学的意義を明らかにするための前提であり、ウイルス学的に重要な知見と考える。