



Title	水痘ウイルス (VZV) によりBiochemical transformされた細胞中のウイルス関連抗原の解析
Author(s)	Patricia, Lopetegui
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33637">https://hdl.handle.net/11094/33637</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">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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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)	パトリシア ロペテグイ PATRICIA LOPETEGUI
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6096 号
学位授与の日付	昭和 58 年 5 月 11 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	水痘ウィルス (VZV) により Biochemical transform された細胞中の ウィルス関連抗原の解析
論文審査委員	(主査) 教授 高橋 理明 (副査) 教授 松代 愛三 教授 加藤 四郎

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

ヘルペスウィルスに属する VZV は初感染時には水痘を発症せしめ、その後知覚神経節に潜伏し加齢などの免疫力低下により再活性化されて帯状疱疹をおこすことが知られている。しかし、潜伏化や活性化の機構は明らかではない。その原因の 1 つは未だ人間のモデルとしての動物実験系が確立されていない点にある。VZV にはウィルス特異チミジンキナーゼ (tk) が存在することが知られているので私達はまず in vitro でのウィルスの潜伏感染系をうる目的でマウス Ltk<sup>-</sup> (チミジンキナーゼ欠如 L 細胞) に VZV を感染させ、選択培地で培養することで VZV の DNA が安定に細胞中に存在する系を確立した。そこで私はその細胞中にはどのような VZV 関連抗原が発現され、又培養条件を変化させることでその発現がどのように変化するかをしらべる目的で実験を試みた。

#### (方法及び成績)

1. 用いた細胞は VZV の岡株及び河口株で生化学的に transform させた L(O)cl3, L(K)cl1 でありこれらは選択培地 (HAT) で培養された。又 L(O)cl3 の非選択培地で培養された細胞も同時に用いた。これらの細胞を対照細胞の Ltk<sup>-</sup> 細胞と共に [<sup>35</sup>S]メチオニンで 4 時間ラベルした後に RIPA buffer で溶解し超遠心の後上清を抗 VZV 抗体 (アフリカミドリ猿に頻回 VZV を免疫することにより作製した) と反応させ、免疫沈降の後 SDS - ポリアクリルアミド電気泳動法 (PAGE) にて分析を行った。その結果 L(O)cl3 には分子量 135K, 48K, 44K, 35K の 4 種のタンパクが見出されたが非選択培地培養細胞においてはこれらのタンパクはいずれもわずしか見出されなかった。L(K)cl1 には 44K のタンパクは見い出されなかった。このうち 35K タンパクが最も強く現れる

抗原であった。又 VZV の tk 欠如ウィルスを感染させた細胞中にはこの35Kタンパクが誘導されなかった。

2. つづいて上記の細胞を〔<sup>32</sup>P〕で一夜ラベルし同様の方法で分析を行った結果、5種のタンパク(180K, 81K, 48K, 44K, 37K)が見出された。再びL(K)c1 1には、44Kタンパクは見出されず、又L(O)c1 3でも非選択培地培養細胞においてはすべてのタンパクの発現が低かった。以上の結果より少なくとも7種のウィルス関連抗原が細胞中に見出された。
3. 上記のようにSDS-PAGE上では培養条件でウィルス関連抗原の発現に差があることが判明したがつづいてウィルス特異tkの発現を検索した。方法としてLtk<sup>-</sup>, 選択培地培養L(O)c13, 非選択培地培養L(O)c13細胞を採取し細胞破碎の後遠心しその上清を酵素原として〔<sup>14</sup>C〕チミジンのリン酸化をDEAE-セルロース上で検索した結果、L(O)c13を非選択培地で培養した場合のtk活性は選択培地での培養細胞の1/3ぐらいに低下していた。

(総括)

1. VZVによりbiochemical transformされたL(O)c1 3,及びL(K)c1 1を〔<sup>35</sup>S〕メチオニン及び〔<sup>32</sup>P〕でラベルし、細胞extractを抗VZV血清と反応させ免疫沈降後SDS-PAGEで分析を行うと7種のウィルス関連抗原が見出された。そのうち35Kは特に強く認められ、この35Kタンパクはtk<sup>-</sup>ウィルス感染細胞中に見出されなかったことより、このタンパクはウィルス特異tkと思われる。
2. このbiochemical transform細胞は培地の条件でtk活性及び、その他のタンパクの発現も変化してくることよりin vivoの潜伏感染系でもこのように外的条件の変化で潜伏感染ウィルスの抗原発現も変化することが示唆される。
3. 以上のことより今後、細胞中のウィルスDNAの存在様式の解析を進めていくことにより私達の系は、ウィルス潜伏感染の機構を知る手がかりとなりうると思われる。

## 論文の審査結果の要旨

水痘ウィルス(VZV)は人に潜伏感染をおこし種々の誘因で再活性化されて带状疱疹となることが知られているがその機構は解明されていない。本研究はその解明を目ざしin vitroでのVZVの持続感染系を得、細胞中に発現しているウィルス特異蛋白をしらべたものである。方法としてはVZVをマウスのL(TK<sup>-</sup>)細胞に感染させVZVのTK(チミジンキナーゼ)をマーカーとしていわゆるbiochemical transformatinをおこさせることに成功し更にtransformした種々の細胞クローン中に5種のリン酸化タンパクを含む7種のウィルス特異タンパクを見出した。今後この系はin vivoにおける潜伏感染及び再活性化の機構を解明する上で大いに役立つものと思われる。