



Title	マレック病ウイルスの腫瘍原性の変化に付随するDNA断片の一次構造に関する研究
Author(s)	間苧谷, 久美子
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35224">https://hdl.handle.net/11094/35224</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">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

氏名・(本籍)	間 芹 谷 久 美 子
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 7226 号
学位授与の日付	昭 和 61 年 3 月 25 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	マレック病ウイルスの腫瘍原性の変化に付隨するDNA断片の一次構造に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 加藤 四郎 (副査) 教 授 羽倉 明 教 授 角永 武夫

## 論 文 内 容 の 要 旨

## (目 的)

マレック病ウイルス (MDV) はヘルペスウイルス科に属するウイルスであるが、ニワトリに悪性リンパ腫を形成する。MDVはトリ線維芽細胞で継代することにより、その腫瘍原性を消失する。本研究室において、腫瘍原性のある低継代MDV ( $Md^+$ ) と、腫瘍原性を消失した高継代MDV ( $Md^-$ ) のDNAを比較し、その腫瘍原性の消失に伴って変化する2つの制限酵素断片が存在することを見出した。更に、これらの制限酵素断片は、MDVゲノムに存在する2組の倒置反復配列中の $TR_L$ 及び $IR_L$ を含む領域に位置していることを示した。

本研究の目的は、 $Md^+$ 株と $Md^-$ 株の間で差のあるこれら制限酵素断片につき一次構造を決定し、比較解析することにある。

## (方 法)

MDVのBC-1株を用いた。腫瘍原性のある低継代株 ( $Md^+$ ) としては、15~20代のものを、非腫瘍原性の高継代株 ( $Md^-$ ) としては、60~65代のものを用いた。

ウイルスゲノムのクローニングは、プラスミドpBR 322に挿入した。

塩基配列決定はM13ファージベクターmp 8またはmp 9に断片を組み込み、E. coli JM 103株にトランسفェクトしたものよりDNAを調製後、Sangerのdideoxy法により行なった。

Southern hybridization, colony hybridizationは常法通り行なった。

## (結 果)

$Md^+$ 株と $Md^-$ 株間で差の認められる制限酵素断片は、 $TR_L$ または $IR_L$ の一部をそれぞれ含むBamHID

(12kb : kilo base pairs) 及び H (5.3 kb) 断片である。 [ $^{32}\text{P}$ ] でラベルしたBamHID及びH断片は Md<sup>-</sup>株においては、それぞれ分子量の大きい不均一な断片Dhet (12.3 ~ 16.7 kbに分布する断片) と Hhet (6.0 ~ 9.8 kbに分布する断片) とハイブリダイズする。これらの断片のクローニングを行なったところ、Dhet由来の 14.0 kb と 14.5 kb. Hhet由来の 6.0 kb, 7.0 kb および 8.0 kb のクローンが得られた。

各クローンをEcoRI消化すると D 断片およびDhet断片では 5 本, H断片およびHhet断片では 3 本の断片を生ずる。しかし Md<sup>+</sup> と Md<sup>-</sup> で差がみとめられたのは、それぞれ 1 本の subfragment であったのでそれらの subcloning を行なったのち各種の 4 base 認識の制限酵素により消化したところ、Md<sup>+</sup> 株の特異的領域は約 500 bp に限定されたため、その領域を含む TaqI 消化で生ずる約 540 bp の断片の塩基配列を決定した。その結果、この断片の内部には 132 bp を 1 つの unit とする direct な繰り返し配列が 3 組含まれていた。Md<sup>-</sup> 株由来のクローンをこの unit の内部に 1 ケ所のみを認識する制限酵素 AccI で消化すると 132 bp の断片のモル数のみが Md<sup>+</sup> 株と異なる。また、クローン化した Hhet 断片の AccI 部分分解のパターンは 132 bp ずつの差の ladder を示す。Md<sup>-</sup> 株のウイルスゲノム DNA を AccI で部分分解したものを  $^{32}\text{P}$  でラベルした Hhet 断片とハイブリダイズさせたパターンも同様であった。これより、Md<sup>-</sup> 株では 132 bp の direct repeat のコピー数の違いのみが Md<sup>+</sup> 株との断片の大きさの差異を反映していることが示された。

Md<sup>+</sup> 株および Md<sup>-</sup> 株由来の TR<sub>L</sub> または IR<sub>L</sub> の 132 bp の塩基配列は差異がなかった。

132 bp を通す open reading frame は存在しなかった。

6 bp または 7 bp からなる倒置反復配列が存在していた。

#### (総括)

MDVゲノムの倒置反復配列中には同じ塩基配列からなる 132 bp を 1 unit とする direct repeat が存在し、Md<sup>+</sup> 株においては 3 組、Md<sup>-</sup> 株ではより多く繰り返しを生じていた。

#### 論文の審査結果の要旨

マレック病ウイルス (MDV) には腫瘍原性株 (Md<sup>+</sup>) と非腫瘍原性株 (Md<sup>-</sup>) があり、Md<sup>+</sup> の特定のDNA制限酵素断片が Md<sup>-</sup> では分子量の大きな断片に変化している。本研究は、両株間で変化するこれらDNA断片の一次構造を解析し、132 塩基対を単位とする連続した同方向反復配列の存在することを示すとともに、その反復配列の数が Md<sup>-</sup> では増加していることを見出したものである。MDVの分子生物学に重要な知見を加えたもので学位論文として価値あるものと考える。