

Title	マレック病ウイルスの腫瘍原性の消失に伴い変化する領域より転写されるRNAに関する研究
Author(s)	金森, 昭広
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35280
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

氏名・(本籍)	か 金	もり 森	あき 昭	ひろ 広
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7654	号	
学位授与の日付	昭和62年3月26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消失に伴い変化する領域より転写されるRNAに関する研究			
論文審査委員	(主査) 教授 加藤 四郎			
	(副査) 教授 高橋 理明 教授 羽倉 明			

論文内容の要旨

[目 的]

マレック病(MD)ウイルス1型(MDV1)はヘルペスウイルス科に属し、ニワトリに悪性リンパ腫をおこす。MDV1は、培養細胞を継代することにより容易に腫瘍原性を失う。本研究室においてMDV1の腫瘍原性の消失に付随するMDV1 DNAの変化として、制限酵素断片、BamHI-D及びHが、分子量の不均一なバンド(それぞれDhet, Hhetと呼ぶ)として検出されることが見出された。私達は、これらの断片の構造を比較検討し、それぞれの断片の132bpを単位とする反復配列が、腫瘍原性株では、3コ、非腫瘍原性株では、数10コに増幅されていることを明らかにした。本研究の目的は、BamHI-D, H及びDhet, Hhet断片より転写されるRNAの有無、及びそのRNAの性質を明らかにすることにある。

[方 法]

腫瘍原性株としてMDV1(BC-1株)を、非腫瘍原性株としては、同株をトリ胚線維芽細胞(CEF)で60回以上継代したものをを用いた。これらのBC-1株をCEFに感染させ、RNAを抽出し、oligo dTカラムで精製した後、ノーザンブロットを行った。また腫瘍細胞株としては、MSB1, RP1, HP1を用いた。ノーザンブロット、サザンブロット、cDNAの合成については常法に従った。

[成 績]

MDV1の腫瘍原性の消失に伴い変化するBamHI-D及び-H断片のIR部分から転写されるRNAとして、腫瘍原性BC-1株では、2.3kb, 3.8kb, 6.0kbの3種類のRNAが同定された。これらのRNA量を、MDV1ゲノム全体から転写される種々のRNA量と比較するため、感染細胞から得た

poly(A)RNAを用いてcDNAを合成し、これをプローブとして、クローニングしたMDV1ゲノムの各BamHI断片とハイブリダイズさせて検討した。その結果BamHI-D, Hの領域がもっとも多くハイブリダイズすることを見出した。即ち、少なくとも2.3kbのRNAは量的に最も多く転写されるRNAの一つであることが示された。またこれらのRNAのうち3.8kb, 6.0kbのRNAはBamHI-HのIR部分および隣接するBamHI-I2部分より転写されていたが、2.3kbのRNAは、BamHI-HのIR部分のみから転写されていた。これらのRNAは、BamHI-D, Hの領域に存在する132bpの反復配列構造からもコードされていた。この反復配列は、腫瘍原性BC-1株では各々3コ存在するが、非腫瘍原性株では数10コ以上にも増加し、これらのRNAの転写にも影響すると予想された。この点を明らかにするため非腫瘍原性BC-1株についても同様にノーザンプロットを行なったが、この場合にはこれら3つのRNAは単一のバンドとしては検出されず、約3~11kbの領域にheterogenousなパターンとして検出された。従って132bpの反復配列のコピー数が不均一に増加したため、3つのRNAのうち少なくとも1つはその分子量が不均一になったと考えられる。次にこのような変化が他の領域にも存在するか否かを検討するため、MDV1ゲノムの90%以上を含む、BamHI-A~Nの17種のプローブを用いて、腫瘍原性BC-1株と非腫瘍原性BC-1株について比較したが、BamHI-Aの領域からコードされるRNAにのみ相異が認められた。

次にこれら3種のRNAがMDリンパ腫より樹立した培養腫瘍細胞株において発現しているか否かを、MSB1, RP1, HP1の3種の腫瘍細胞株につき検討した。これらの細胞のうち、MSB1では2.3kbと6.0kbのRNAが検出されたが、RP1では2.7kbと3.6kbのRNAが検出され、HP1では、この領域からのRNAの発現は検出されなかった。これについて更にサザンプロット法にてDNAの解析を行ない、RP1についてはこの領域にrearrangementが存在し、またMSB1とHP1で132bpの反復配列のコピー数に相異が見られることを示した。

[総括]

MDV1の腫瘍原性に付随して、制限酵素断片BamHI-D, 及びH断片は、それぞれBamHI-Dhet, Hhetに変化する。これら断片内に存在する132bpの反復配列がRNAを転写する領域の一部に含まれるか否かを検討し、腫瘍原性株では、この領域が2.3kb, 3.8kb, 6.0kbのRNAの転写領域の一部であることを明らかにした。一方この反復配列は腫瘍原性の消失に伴ない不均一に数10コ以上にも増加するため、これに対応しこれら3つのRNAのうち少なくとも1つは不均一な分子量のRNAとして転写されることを示した。従ってこの領域からコードされる産物も腫瘍原性の消失に伴い変化することが推測される。なお、これらのRNAは調べたMD腫瘍細胞株3株のうち、2株でのみ検出された。今後その産物につき、腫瘍関連たん白との関係を明らかにしたい。

論文の審査結果の要旨

本研究は、マレック病ウイルス(MDV)の腫瘍原性の消失に伴い変化するウイルス遺伝子領域から

転写されるRNAを見出し、その性質を解析したものである。すなわち、この領域に存在する132bpの反復配列は腫瘍原性の消失に伴い、そのコピー数が不均一に増加するが、本研究ではこの反復配列がこのRNAの転写領域の一部であることを明らかにし、更に非腫瘍原性株ではこれが不均一な分子量のRNAに変化することなどを示した。本研究はMDVの腫瘍化機構の分子生物学に重要な知見を加えたものであり学位論文として価値あるものとする。