

Title	HVJ (センダイウィルス) : エンペロープのATP水解活性とヌクレオキャプシドにおけるRNA-蛋白質相互作用
Author(s)	李, 良子
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35311
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)	李 良 子
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 7639 号
学位授与の日付	昭 和 62 年 3 月 26 日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	HVJ(センダイウィルス) : エンペロープのATP水解活性とヌクレオ キャプシドにおけるRNA-蛋白質相互作用
論文審査委員	(主査) 教 授 佐藤 了 (副査) 教 授 堀尾 武一 教 授 中川 八郎 教 授 岡田 善雄

論 文 内 容 の 要 旨

1. HVJによるトリ赤血球の細胞融合反応を解析する過程でHVJの“ATPase”活性という未知の活性を見出した。このATPaseの特徴は、低濃度の界面活性剤で失活することである。電顕による観察では、エンペロープは、形態的にはほとんど破壊されておらず、おそらく小さな穴が出来る程度の乱れである。そこで、この活性の原因を調べるために、 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ を用いて実験を行った。その結果、 ^{32}P で標識される蛋白質の存在を検出できた。オートラジオグラフィーでは、HVJのF₂(分子量15KDa)より高い移動度を示し、このバンドは非標識のATPでチェイスされる。さらに銀染色でもバンドを確認できた。この“ATPase”活性の少なくとも一部はプロテインキナーゼとホスファターゼの共同作用によるものと思われる。
2. HVJのヌクレオカプシドにおけるRNAと蛋白質の相互作用を知ることは、一般的にウイルスの感染および構造形成を理解する上での大きな手がかりとなる。HVJのヌクレオカプシド構造は負鎖の50SRNAと、およそ2,600分子のNP、300分子のPおよび30分子のL蛋白質からなると推定されている。そこで、ゲノムRNA、NP及びP蛋白質を精製し、それらの相互作用を明らかにしようとした。NP及びP蛋白質を精製する上で困難な点は、まずこの蛋白質がウイルス粒子から可溶化されにくいこと、M蛋白質が存在すると塩濃度を下げたときに沈澱してしまうことであった。先の点は、2MLiNO₃と2%エマルゲンを使用することで効果的に可溶化でき、M蛋白質は疎水性樹脂で除去することができ、両蛋白質とも電気泳動で単一バンドの精製標品を得ることができた。この精製標品は、P蛋白質は単量体で、NP蛋白質は四量体及び二量体で存在し、両蛋白質を混合するとP-NP複合体を形成することがゲルろ過によってわかった。また、精製した蛋白質と、HVJゲノムRNAや異種のRNAとの

実験より次のことが明らかになった。

1) NP蛋白質はHV JのRNAだけに特異的に結合する。2) 変性状態のPとM蛋白質は、異種RNAに結合したが、NP蛋白質では結合しない。

以上、得られた知見は、現在推定されているHV Jウイルスのヌクレオカプシドの構造を支持するものである。

論文の審査結果の要旨

HV J (センダイウイルス) は動物細胞の融合を惹起する活性を持つパラミクソウイルスの一つである。

李君はHV Jによるニワトリ赤血球の融合反応を解析する過程で、このウイルスがATPを水解する活性をもつことを発見し、その性質を研究した。この活性はウイルスのエンベロープ膜に著しい形態的破壊を与えない程度の低濃度の各種界面活性剤で失われる。〔 γ - ^{32}P 〕ATPをHV Jに加えると、HV JのF₂蛋白質(分子量15,000)よりも小さい蛋白質が ^{32}P で標識されること、またこの標識は非放射性ATPの添加によってチェイスされることから、このATP水解活性の原因の一つはプロテインキナーゼとホスファターゼの共同作用によると結論した。

次にHV Jのヌクレオカプシドの構築原理を解明するために、ヌクレオカプシド構成成分であるゲノムRNA、NPおよびP蛋白質、さらにマトリックス蛋白質であるMを精製し、それらの間の相互作用を研究した。これらの中、NPおよびPは2MLiNO₃を可溶化剤としてはじめて精製されたものである。この研究の結果NPとPとは1:1の結合体をつくること、PとMとも結合すること、NPはHV JのゲノムRNAと特異的に結合すること、またPはゲノムRNAのほかウサギ肝のRNAとも非特異的に結合することなどを明らかにすることができた。これらの結果は、従来間接的な知見から推定されていたHV Jのヌクレオカプシドの構造模型に実験的支持を与えるものである。

これらの研究成果はHV Jが従来知られていなかったATP水解活性を持つことを明らかにし、またそのヌクレオカプシド構造解明に大きな一歩を進めたものであり、理学博士の学位に十分値するものである。