



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | ウイルス外膜とリポゾームとの融合                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Author(s)    | 勝本, 善衛                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Citation     | 大阪大学, 1987, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/35696">https://hdl.handle.net/11094/35696</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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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) | かつ<br>勝          | もと<br>本 | よし<br>善 | え<br>衛 |
| 学位の種類   | 医                | 学       | 博       | 士      |
| 学位記番号   | 第                | 7816    | 号       |        |
| 学位授与の日付 | 昭和62年7月9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  | ウイルス外膜とリボゾームとの融合 |         |         |        |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 岡田 善雄 |         |         |        |
|         | (副査)<br>教授 加藤 四郎 | 教授 内田   | 曉       |        |

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

膜融合反応は生物学的現象の中でも重要な反応のひとつで多くの研究がなされてきたが生体膜が構造的に複雑で種々の要素を含んでいること等によって詳しい機構については不明な点が多数残っている。本研究は fusogen としてよく利用される H V J (センダイウィルス) の外膜をモデルにして裏打ち構造の崩壊が膜融合にどのように関与しているかを示すために行った。

H V J 粒子の外膜は自然界の生体膜のなかでも最も単純な構造を呈しており、さらに出芽直後の若い粒子と数週間保存した後の加齢粒子との間には形態学上の違いを認める。これは時間経過により唯一の裏打ち構造である M タンパクの裏打ち機能が崩壊していくために起こる現象とされており、事実、電顕的にも外膜とヌクレオカプシドとを連絡する構造に明確な差が認められている。

この観察をもとにしてウィルス外膜の構造を推定してみると、若い粒子では外膜面に糖タンパクが規則正しく分布しているのに対し加齢粒子ではその分布が不規則になり結果としてハダカの脂質面が露出する頻度が高くなっていると思われる。生体膜相互の融合はこのような部域で誘起されるという一つの仮説を証明する材料としてこの二種類のウィルス粒子が人工リボゾームと融合する能率を検討しようとしたものである。

### 〔方 法〕

(1) H V J 外膜は加齢による M タンパクの機能変化とは関係なく常に細胞膜との融合性を有し粒子内部の物質を細胞内へ導入する活性がある。

(2) リン脂質融合物より作られた人工リボゾームは細胞膜との積極的な融合機能をもっていないので

内部の高分子物質が細胞質内へ導入されることはない。

(3) もしこの両者が融合できればH V J外膜の働きで膜融合が成立し、リボゾーム内の高分子物質は細胞質内に導入されと考えられる。

(4) 人工リボゾーム内にジフテリア毒素フラグメントAをふくむものを調製し、これがH V J粒子と融合すればその融合粒子だけが細胞毒としての効果を示すと予想できるのでこのことをH V J粒子と人工リボゾームとの融合能率を測定する指標としてみた。

#### [成 績]

(1) 加齢したH V J粒子はH V J接種後の孵化鶏卵漿尿液を3日後に採収し精製して4℃に保存したもので十分なウィルス量(50000~100000HA/ml)を得ることができた。又、若いウィルス粒子は感染直後の鶏卵漿尿膜を培養し発芽直後のウィルスを頻回に集めることで十分なウィルス量(10000~15000HA/ml)を得ることができた。

(2) 人工リボゾームはリン脂質混合物を超音波処理してゲル濾過で精製しフラグメントAを封印するものと空のリボゾームとを調製した。それぞれOD540nmの吸光度で0.6前後の濃度のものを得ることができた。この人工リボゾームは調製後に時間の経過したものはリン脂質が酸化されてそれ自体が細胞毒となるが本実験に使用した2種類の人工リボゾームは、実際に使用した濃度のものを細胞に添加しても細胞毒性を示さないことが確認できた。

(3) 加齢したH V J粒子とフラグメントAを封印する人工リボゾームを37℃で30分間接触させた試料には強い細胞毒性が観察され、加齢粒子と人工リボゾームとの融合を形態学的にも確認できた。

(4) 上記と同じ条件下で若いH V J粒子を用いて同様にフラグメントAを封印する人工リボゾームと接触させた試料では加齢ウィルス粒子の場合と異なり細胞毒性が激減した。

#### [総 括]

人工リボゾームは加齢ウィルス粒子外膜とよく融合するが若い粒子外膜との融合率は極めて悪いことが示された。このことは生体膜の裏打ち構造の機能崩壊が生体膜の融合反応を可能にすることを証明するものである。

### 論文の審査結果の要旨

H V J粒子の外膜は自然界のなかでも最も単純な構造の生体膜でありM蛋白質が唯一の裏打ち構造である。本研究はfusogenとしてよく利用されるこのH V Jの外膜をモデルとして生体膜裏打ち構造の崩壊が、生体膜融合に大きく関与する事を示した論文である。

ジフテリア毒素フラグメントAを封入した人工リボゾームとH V J外膜との融合能率を測定するというユニークな方法で、加齢して裏打ち構造の崩壊したH V J粒子ではよく膜融合が進行するが裏打ち構造がしっかりしている若いH V J粒子ではこの融合が抑制される事が結論された。

本論文は博士論文として適当であると認められる。