Osaka University Knowledge Archive

Title	水痘ウイルス糖蛋白gp I, gpIVmRNAの解析及び組み換えワクシニアウイルスを用いたgp I の免疫学的解析
Author(s)	加藤, 珠子
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36040
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【23】

氏名・(本籍)	加藤珠子（かとうたまこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8593 号
学位授与の日付	平成元年3月24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	**水痘ウイルス糖蛋白gpⅠ，gpⅣmRNAの解析及び組み換えワクシニアウイルスを用いたgpⅠの免疫学的解析**
論文審査委員	(主査) 教授 高橋 理明 (副査) 教授 加藤 四郎　教授 羽倉 明

論文内容の要旨

〔目的〕

VZVには主要な4種の糖タンパク（gpI-IV）が存在する。これらのうちgpI，gpIVはVZVゲノム上のUnique short region内に隣接してコードされている。今回gpI及びgpIV の遺伝子領域の詳細なtranscription mapを作製し，更に詳しくどのmRNAの転写産物がgpI，gpIVに相当するかを検討した。又これらの糖タンパクが水痘の感染及び免疫反応にどのような役割を果しているかをgpI及びgpIV遺伝子を組み込んだVaccinia Virus（VV）を用いて解析を行った。

〔方法〕

1. ウイルスはVZV河口株，VV弱毒ワクシニアLC16mO株，細胞はヒト胎児繊維芽細胞を用いた。
2. プラスミド作製：VZVのDNAフラグメントをpUC12に組み込んだ。
3. 組み換えVV：LC16mO株のTk遺伝子中にgpI又はgpIV遺伝子を挿入した。
4. 抗体：サルで作製した抗VZV免疫血清及び抗VZV単クローン抗体を用いた。
5. mRNAの調整：従来のグアニジウム法にて全RNA抽出後oligo-dTカラムにてpolyA^{+}mRNAを精製した。
6. Northern blot, Hybrid selection, In vitro translation：常法に従った。in vitro translationにはウサギ網状赤血球ライセートを使用し^{35}S—メチオニンでラベルした。
7. 免疫：生後2ケ月のウサギを10^{7} PFUの組み換えVV及びLC16mO株で免疫した。
8. 免疫学的解析：常法に従い，蛍光抗体法による抗体価の測定，^{35}S—メチオニンラベルによる免疫沈降法及びSDS—PAGE，中和試験を行った。

〔成績〕

1. Northern blotによるgpI及びgpIV領域の解析：gpIVをコードするDNA領域は，3.6kb，2.7kb，1.6kb mRNAとhybridizeし，又gpIをコードするDNA領域は3.6kb，2.15kb mRNAとhybridizeした。各々の領域とhybridizeするmRNAをin vitroにて転写した結果，gpIVの領域からは37kのタンパクが，gpIの領域からは70kのタンパクがサル免疫血清にて認識された。この70kのタンパクは抗gpI単クローン抗体においても認識された。
2. 組み換えVVを用いてのgpIの生物学的活性の解析：単クローン抗体を用いて蛍光抗体を行った結果，gpI遺伝子を組み込んだVV感染細胞の膜表面及び細胞質にVZV抗原が陽性であった。又感染細胞中には100k，86k，75kタンパクが単クローン抗体にて認識され，組み換えVV感染ウサギ免疫血清はVZV感染細胞のgpI（94k，83k，75k）を認識した。この免疫血清は抗gpI単クローン抗体と同様に補体要求性中和能を有していた。一方，gpIVを組み込んだVV感染細胞中には種々の解析を試みたが，抗原を検出できなかった。

〔総括〕

1. VZVの糖タンパクgpI及びgpIVをコードしている領域のDNA断片を用いてNorthern blotでRNA解析を行った結果，各々3.6kb，2.15kb及び，3.6kb，2.7kb，1.6kbのpolyA^{+}mRNAが検出された。更にDNA断片を用いmRNAをhybrid selectしin vitro translationを行った結果，上記のmRNAのうち，1.6kb mRNA転写産物がgpIV，2.15kb mRNAの転写産物がgpIであることが確認された。
2. gpIのopen reading frameを組み込んだVVは細胞中で免疫学的にはVZV gpIとほぼ同じ性状のタンパクを誘導しウサギにも同様の免疫原性を有するが，分子量に多少の相違が認められた。post translationalな修飾がVVとVZVでは異なる為かもしれない。

論文の審査結果の要旨

VZVにはgp I，II，III，IVの4種類の糖蛋白がある。このうちgpI，gp IVはVZVゲノム上のUnique short regionに隣接してコードされている。本研究においてgp I，gp IVの詳細なtranscription mapを作製しそれぞれのmRNAを同定した。更にそれぞれの遺伝子をワクシニアウイルスに挿入し糖蛋白の発現を試みた結果，gp Iの発現を確認し，さらにそのgp Iを組み込んだワクシニアウイルスを用いて家兎を免疫することにより抗gp I抗体が産生され補体要求性の中和能をもつことを明らかにした。

水痘ウイルスの糖蛋白は感染，免疫に重要な役割を果しており，本研究はその基礎的研究として意義があり学位論文に値すると考えられる。