



Title	Production of hepatitis B virion-like particles in yeast
Author(s)	塩先, 巧一
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38302
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	塙 先 巧 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 1 6 号
学位授与年月日	平成 4 年 5 月 12 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Production of hepatitis B virion-like particles in yeast (酵母におけるB型肝炎ウイルス様粒子の構築)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松原 謙一 (副査) 教 授 中田 篤男 教 授 吉川 寛

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

B型肝炎ウイルス (HBV) は、直径約40nmのエンベロープウイルスである。1980年にヒトの血液から HBV のゲノムがクローニングされ、続いてその全塩基配列が明らかにされたのを契機として、HBV の構造蛋白 [major S (226 aa), middle S (281 aa), large S (400aa) と Core (183 aa) 蛋白] の発現が種々の宿主（特に酵母菌）を用いて試みられた。この研究の目的は、表面膜蛋白間の、又表面膜蛋白と Core 蛋白の重合体である nucleocapsid との相互作用を調べることで、HBV の構造蛋白の分子集合及びウイルスの構造を明かにすることである。

[方法ならびに成績]

HBV の3種の表面膜蛋白の内、最も多量に発現される major S の遺伝子を酵母菌のゲノムに挿入し、その後に化学的・物理的な変異操作を行うことで、major S を高産生する安定形質転換体を作製した。この転換体に middle S, large S そして Core 蛋白の発現プラスミドを導入することで HBV 構造蛋白の共発現系を可能にした。共発現が成立した酵母菌破碎液中のウイルス様産物を、免疫学的・物理化学的手法を用いて解析した。その結果を以下に述べる。

- (1) major S を middle S 又は large S と共に発現すると、エンベロープ上に2種の表面膜蛋白が存在する small particle を形成した。特に large S は、major S と共に発現されるとその粒子形成能を著しく向上させた。
- (2) 3種の表面膜蛋白と Core 蛋白を酵母菌内で共発現させることにより、約40nmの HBV 様粒子の形成を確認した。この HBV 様粒子の密度は血清由来の HBV 粒子とほぼ同じ 1.25g/ml であり、エンベロープを除去する界面活性剤処理により新たに HBcAg の抗原性を示した。
- (3) 上記の HBV 様粒子の形成は、3種の表面膜蛋白と Core 蛋白を共発現した時にのみ観察され、いずれか一成分を欠く場合にはその形成は起こらなかった。

[総 括]

HBV の4種の構造蛋白を酵母を宿主として共発現させることにより HBV 様粒子を生産できること、そしてその生産のためには4種の構造蛋白が必要であることを示した。この粒子形成は、酵母という全く異種の宿主の中でも起こ

ことから、構造蛋白間（すなわち脂質二重膜にアンカーされた表面膜蛋白間及びこれと core との間）の相互作用に依って行われ、それ以外の因子の関与はないと結論された。

この HBV 様粒子は、ワクチン抗原として理想的な形態を有していると思われる。

論文審査の結果の要旨

B型肝炎ウイルスの全塩基配列が明かにされたのを契機として、B型肝炎ウイルスを構成する4種の構造蛋白（3種の表面蛋白とコア蛋白）の発現及びその性状解析がそれぞれ個々になされたが、3種の表面蛋白とコア蛋白間の相互作用及びそれらの分子集合に関する知見はなかった。それを解明するために本論文では、酵母を宿主として3種の表面蛋白とコア蛋白を同時に発現できる系を構築し、その系を用いて3種の表面蛋白とコア蛋白間の相互作用及び分子集合を免疫学的・物理化学的手法を用いて解析した。

本論文より 1) 4種の構造蛋白を共発現させることにより B型肝炎ウイルス様の粒子ができるここと、2) その粒子形成には4種の構造蛋白の共発現が必須であること、3) この粒子形成が酵母という異種の宿主においても可能であることから、この粒子形成は4種の構造蛋白（すなわち脂質二重膜にアンカーされた3種の表面蛋白とコア粒子間）の相互作用及び分子集合に依って行われ、ウイルス由来の他の因子の関与は必要ないことが明らかになった。

本論文により得られた上記の知見は、B型肝炎ウイルスの構造解明に重要なものであり、又ワクチン抗原の改良にも寄与することから、博士論文としてふさわしいものと考える。