

| | |
|---------|---|
| 氏名 | 酒井富久美 さか い ぶ く み |
| 学位の種類 | 農学博士 |
| 学位記番号 | 農博第94号 |
| 学位授与の日付 | 昭和43年7月23日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第1項該当 |
| 研究科・専攻 | 農学研究科農芸化学専攻 |
| 学位論文題目 | BIOCHEMICAL STUDIES ON MULTIPLICATION OF A VIRAL DNA (ウイルスDNAの増殖に関する生化学的研究) |

論文調査委員 (主査) 教授 小野寺幸之進 教授 緒方浩一 教授 石井象二郎

論文内容の要旨

カイコ核多角体病ウイルス (Nuclear Polyhedrosis Virus=NPV) のウイルス活性の本体は DNA である。本論文はこのウイルス感染・増殖によっておこる DNA の増殖・複製の様相を生化学の見地から追求した結果を論述したものである。

NPV 感染による宿主 (サナギ) 細胞内の DNA 合成の様相を知るため、in vivo での DNA 画分への ^{32}P とり込み量を測定したところ、正常サナギでは ^{32}P とり込み量は、経時的にみてほぼ一定であった。一方、NPV 感染サナギでは36時間後に増加がはじまり、60時間目にピークに達し、 ^{32}P とり込み量は正常サナギの場合の4倍を示した。ウイルス粒子中の DNA へのとり込み量は低かった。これらの結果は NPV 感染にもとづくウイルス DNA の合成のため、宿主細胞内 DNA の合成が高められること、および一定の潜伏期の後に合成が始められることを示している。

In vivo での DNA 合成の変動に関連して in vitro での DNA 合成酵素活性を NPV 接種後、経時的に測定した。サナギ無細胞抽出液を用い DNA 画分への dTM ^{32}P のとり込み量をめじるしとした。その変動の様相は in vivo での観察結果と同様のパターンを示した。酵素活性のピークでは正常サナギの場合の20倍に達し、その増加の割合は in vivo のその5倍を示した。これはウイルス DNA の増殖が宿主細胞内の DNA 前駆物質のプールを利用して行なわれること、さらに NPV 感染によって DNA polymerase が宿主細胞内に誘導形成されることを示唆する。またこの polymerase はテンプレート DNA の二次構造に対して非特異的である。

DNA 合成には前駆体供給に関与する複雑な代謝調節系が存在すると考えられる。そこで4種類の5'-dXMP (X: A, G, C, T) kinase, 5'-deoxyribonucleotidase および DNase 活性の変動を追求した。5'-dCM-および 5'-dTMP kinase 活性はNPV感染によって DNA 合成酵素活性の発現に先行して増加しはじめる。また 5'-dTMP kinase は宿主細胞内 DNA 合成を律速している。これらの酵素はウイルス DNA 増殖の初期段階での代謝調節に重要な役割を果たすものと考えられる。一方、DNAase, 5'-

uncleotidase の活性には変動がみられなかった。なお polymerase 活性阻害の要因、反応要求性を明らかにした。これらの結果はウイルス DNA 増殖が感染によって誘導形成された DNA polymerase によって行なわれることを示唆する。

ウイルス接種後、DNA 合成が最も盛んな時期にサナギから粗酵素液を抽出し、これを約90倍に部分精製した DNA polymerase 画分を得た。この酵素について至適 pH、反応要求性、イオン要求性および至適濃度、ならびにテンプレート DNA の活性について明らかにした。

DNA polymerase の生成はウイルス感染に基づく酵素の新生によるもので、これはウイルスゲノムによって誘導形成されるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

ウイルス DNA の増殖・複製の様相についての生化学的な観点からの解明は $\phi\times 174$ および T-even 系フェージでかなり詳細にされており、また動物ウイルスでも、1, 2の例について行なわれているが、昆虫ウイルスの分野では行なわれていなかった。カイコ核多角体病ウイルスは昆虫ウイルスのなかでも、とくに特異な形体をとる種類の一つであって、このウイルス活性の本体である DNA の増殖・複製を生化学の見地から追求することは、待ち望まれていた問題である。

著者は昆虫ウイルスの分野ではじめてこの問題に着手し、まず、宿主細胞内におけるウイルス DNA の増殖が DNA polymerase の関与によって行なわれることを立証した。さらに、ウイルス感染サナギから粗酵素液を抽出し、部分精製によって得られた polymerase の酵素化学的性質を明らかにするとともに、この DNA Polymerase がウイルス DNA によって誘導形成されること示唆している。

さらにウイルス DNA 合成の前駆物質に関与する酵素群による代謝調節を追求して、ウイルス感染に伴なう 5'-nucleotide kinase の変動と、この酵素による代謝の律速の様相を明らかにしている。

このように本研究は昆虫ウイルスの分野でウイルス DNA の増殖に関してはじめて生化学の観点からの追求に成功し、DNA によって伝達され、発現される現象の解明に一知見を加えたもので、この分野の進展に寄与するところが大きい。

よって本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。