

【 20 】

氏 名	中 島 捷 久 なか じま かつ ひさ
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 368 号
学位授与の日付	昭 和 50 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	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学位論文題目	サルウイルス (SV 40) により誘導されたたんぱく合成始動因子の研究

論文調査委員 (主 査) 教授 川出由己 教授 香月裕彦 教授 由良 隆

論 文 内 容 の 要 旨

ヒトアデノウイルスは一般にサル細胞では増殖できない。ヒトアデノウイルス 2 型 (Ad<sub>2</sub>) をアフリカミドリザル腎 (AGMK) 細胞に感染させるとウイルス DNA や RNA は正常に合成されるがウイルス殻蛋白の主成分であるヘキソンを合成できず、増殖不能である。しかしサルウイルス (SV 40) でトランスフォームされた AGMK 細胞では、ヒト由来の KB 細胞を用いた場合と同様、ヒトアデノウイルスの増殖は可能である。本研究は Ad<sub>2</sub> の増殖欠陥段階を明らかにし、SV 40 により誘導される因子が Ad<sub>2</sub> の増殖を可能にする機作を追究したものである。

Ad<sub>2</sub> 感染後期の AGMK 細胞より得たポリソームにはヘキソン mRNA 等 Ad<sub>2</sub> 後期 mRNA 分子種の一部が欠落している (参考論文 1)。その原因について、申請者は AGMK 細胞ではヘキソン mRNA がリボソームと結合できないためヘキソン mRNA によるポリソーム形成が不能になるものと推定し、その検証を無細胞系における Ad<sub>2</sub> ヘキソン mRNA とリボソームの結合実験によって行った。

ヘキソン mRNA は Ad<sub>2</sub> 感染 KB 細胞のポリソームよりポリ(U)セファロースカラムと蔗糖密度勾配遠心により精製し、またリボソームは AGMK 細胞より調製した。一方 Ad<sub>2</sub> の増殖可能な、あるいは不能な種々の培養細胞よりリボソーム洗液 (1 MKCl によるリボソームの抽出液) を調製し、洗液によるヘキソン mRNA のリボソームへの結合の促進効果を調べた。実験の結果、SV40 でトランスフォームされた AGMK 細胞より得たリボソーム洗液にはヘキソン mRNA とリボソームの結合を促進する効果が認められた。これに反し AGMK 細胞より得た洗液は SV 40 (AGMK で増殖可能) の mRNA (SV 40 感染 AGMK 細胞よりポリ(U)セファロースカラムで調製) とリボソームの結合を促進するが、Ad<sub>2</sub> ヘキソン mRNA とリボソームの結合を促進する効果は認められなかった。

研究の結果、AGMK 細胞はアデノウイルス後期 mRNA をリボソームに結合させる因子を欠損しており、細胞に SV 40 が存在するときこの因子の生合成が誘導されることが判った。事実この因子はトランスフォームされた AGMK 細胞のリボソームの洗液より回収され、無細胞系においてアデノウイルス後期

mRNA のリボソームへの結合を可能にする機能をもった蛋白合成始動因子である。

### 論文審査の結果の要旨

近年ウイルスと宿主細胞の相互作用に関する機作を解明するため種々の試みがなされている。一般にウイルスの生活環を研究することは、ウイルスの自然史的意味を明らかにすると同時にウイルスによる発癌や細胞分化の機構を知る上で資するところが多い。

ヒトアデノウイルス 2 型 ( $Ad_2$ ) はヒト由来の KB 細胞でよく増殖するが、かつてワクチン調製のため代用としてアフリカミドリザル腎 (AGMK) 細胞を用いて多量に培養されることがあった。後年この時用いられた AGMK 細胞はサルウイルス (SV 40) を保持していることが発見され、SV 40 を除去したところ  $Ad_2$  は AGMK 細胞で増殖しないことがわかった。この増殖欠陥の分子機構を検討すると AGMK 細胞では  $Ad_2$  DNA や mRNA は正常に合成されるにも拘らず  $Ad_2$  粒子蛋白 (主成分はヘキソン蛋白) の合成は見られない。このことからウイルス増殖の欠陥は  $Ad_2$  mRNA の翻訳段階にあり、AGMK 細胞中でウイルス粒子蛋白が合成される際ポリペプチドの伸長不全が起るものと考えられて来た。申請者らは幾多の追跡調査の結果 AGMK 細胞中での上述の翻訳段階の欠陥は一般に考えられて来たポリペプチド合成の伸長にあるのではなく、 $Ad_2$  mRNA がリボソームと結合してポリソームを形成することができないためであると推定した。この考えを検証するため  $Ad_2$  mRNA を感染 KB 細胞より単離精製し、AGMK 細胞より調製したリボソームと結合実験を行い、これを促進する細胞質因子の存在を追究した。

申請者はヘキソン mRNA を  $Ad_2$  感染細胞より安定に単離精製するため可成りの努力を払い成功した。一方リボソームは  $Ad_2$  増殖不能宿主である AGMK 細胞より、また細胞質因子は  $Ad_2$  の増殖可能な、あるいは増殖不能な種々の宿主細胞のリボソーム洗液として調製した。後者については従来知られている蛋白合成始動因子の多くがリボソーム洗液中に発見されているためその方法にならったものである。

実験の結果、 $Ad_2$  の増殖可能な宿主細胞 KB や SV 40 でトランスフォームされた AGMK 等より得たリボソーム洗液にはヘキソン mRNA をリボソームに結合させる因子が存在するが、 $Ad_2$  の増殖不能な宿主細胞 AGMK より得たリボソーム洗液にはこの因子活性は認められなかった。対照として SV 40 mRNA を用いた場合には、何れの細胞より得たリボソーム洗液もリボソーム結合促進活性を示し試料細胞の種類による差異は認められなかった。これらの事実は申請者の推論を強く支持している。本研究に示された蛋白合成始動因子は天然 mRNA によるポリソーム形成の促進活性をもっており高等生物細胞のみならず微生物系の研究を通じても珍しいものであって、ポリペプチド合成始動の分子機構を知る上で重要な知見となり得るものであろう。本系が真にポリペプチド合成の始動段階の解析であることを実証するため、申請者はさらにペプチド伸長を可能にする条件を与えることにより完全なヘキソン蛋白を無細胞的に形成している。

SV 40 ゲノムにより細胞に誘導される蛋白合成始動因子は単に  $Ad_2$  mRNA の翻訳に留らず宿主細胞に新しく生じたある種の mRNA の翻訳に役立っている可能性も考えられる。従って本申請論文の研究結果は発癌や分化現象を含む細胞増殖の調節機構を研究する上で方法的に手がかりを与えるものと云えよう。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。