

氏 名	志 田 壽 利 し た ひさ とし
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 451 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 3 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	ボックスウイルスのA型封入体の研究 ——ウイルス粒子組み込み因子について——

(主 査)
論文調査委員 教 授 川 出 由 己 教 授 由 良 隆 教 授 香 月 裕 彦

論 文 内 容 の 要 旨

ボックスウイルスのある種のものは、感染後期にA型封入体 (ATI) をつくる。これには2種類あり、ひとつは成熟ウイルス粒子をくみこんだもの (V^+ 性質)、他はウイルス粒子をふくまないもの (V^- 性質) である。数年前、市橋・松本は、遺伝学的研究により、ATI に関するふたつのマーカーの存在をあきらかにした。すなわち、封入体形成の有無、それへのウイルス粒子の組み込みの有無である。 V^+ と V^- の遺伝子をもつウイルスを重感染させると、 V^+ ATI が形成され、両方のウイルスがふくまれる。これを説明する可能性としてつぎのことが考えられる。(1) V^+ ウイルスによって生産された、ウイルス粒子組み込み因子 VO が、ウイルスとも ATI ともはなれて存在し、これが両ウイルスに作用して ATI 中に組み込まれるようにする。(2) VO 因子が ATI を修飾して、両ウイルスとも組み込まれるようにする。(3) VO 因子は V^+ ウイルスのエンベロープ構成成分であり、 V^- ウイルスにはふくまれないが、両者の重感染においては、 V^- ウイルス粒子の成熟するときに VO 因子がとりこまれ、その結果 ATI に組み込まれる。

これらの可能性を検討するために、種々の実験を行った。まず(3)に関連し、ウイルス粒子成熟と、ATI への組み込みとを分離しうる条件をさがした。ATI(+) $VO(-)$ のウイルス株、すなわち封入体をつくるが、ウイルス粒子の組み込みのないもの、および ATI(-) $VO(+)$ のウイルス株、すなわち封入体はつくらないが、組み込み因子はつくるもの、の両者をもちい、それぞれの単独感染細胞をつくって増殖過程を完了させたのち、不活化センダイウイルスで両細胞を融合して、 V^+ ATI の形成をしらべた。融合後 37℃ に一夜保温すると、 V^+ ATI が生じた。これにふくまれるウイルスが V^+ 、 V^- の両方であることは、遺伝的性質の分析、電子顕微鏡ラジオオートグラフィによる解析によって確認された。すなわち、ATI へのウイルス粒子の組み込みは、粒子成熟過程の完了後にもおこりうるということがわかった。

他の可能性を検討するべく、無細胞の反応系を開発した。精製した V^+ ウイルスと、 V^- ATI をふくむ細胞破碎液とを混合すると、 V^+ ATI が形成された。 V^+ 、 V^- のウイルス粒子の構成蛋白を電気泳動で分析すると、粒子表面に存在することの知られている成分 VP4C の量について、顕著な差がみとめられた。

さらに、 V^+ ウイルス感染細胞抽出液から遠心でウイルス粒子をのぞいた上清には、 V^- ウイルス粒子と V^- ATI とから V^+ ATI を形成させる因子が存在すること、また V^- ウイルス粒子に VP4C を賦与することが示された。これらのことから、VP4C が VO 因子そのものであると考えられる。

以上の実験結果から、合成された VO 因子の一部は V^+ ウイルス粒子の表面に結合し、その結果 ATI 中への組み込み能が生じる。のこりの VO 因子は細胞質中に分散して存在し、 V^- ウイルスが存在すればそれにも同様に結合すると結論される。

論文審査の結果の要旨

ボックスウイルスは、動物ウイルスの主要群のひとつであり、種痘にもちいるワクシニアウイルスをふくんで、われわれの日常生活になじみのふかいものである。この群のウイルスのあるものは、感染細胞に A 型封入体とよばれる構造体を形成し、それが光学顕微鏡で容易にみとめられるゆえに、ふるくからこのウイルスの感染の指標として注目されてきた。しかしこの構造体は、ウイルスの増殖そのものにとっては必須のものではなく、その生物学的な意義はほとんど不明といってよい。

申請者の属する研究室において、ボックスウイルスには、A 型封入体 (ATI) の形成の有無を支配する遺伝子と、封入体中にウイルス粒子が組み込まれるか否かを決定する遺伝子とが独立に存在することが数年前にあきらかにされた。本研究はこれをうけついで、ATI にウイルス粒子が組み込まれる現象の機構、それに関与する実体、などをあきらかにすることをめざして行われた。

まず、封入体をつくるがそれへのウイルス粒子の組み込みのないウイルス株 ATI(+) $VO(-)$ 、および封入体はつくらないが、組み込み因子はつくる株 ATI(-) $VO(+)$ とをもちい、それぞれ単独で感染した細胞を、ウイルス粒子成熟後に、センダイウイルスをもちいて融合させ、そのなかでの ATI の変化を追跡した。これから次のことがわかった。(i) VO 因子はウイルス増殖過程の後期に合成され、その時期は ATI 形成の時期に対応する。(ii) 合成された VO 因子の一部は、成熟したウイルス粒子表面にすみやかに附着し、ATI への組み込み能をあたえる。のこりの VO 因子は細胞質中に分散しており、 $VO(-)$ のウイルス粒子が存在すればそれにも附着する。(iii) ATI 中へのウイルス粒子組み込みには、蛋白合成やエネルギーを必要としない。

これらの知見にもとづいて、無細胞系での実験が行われた。すなわち感染細胞を破碎した抽出液と、単離した封入体とを混合して、試験管内で封入体へのウイルス粒子組み込みの反応をおこさせることができた。また、組み込み因子を持つウイルス粒子、もたない粒子をそれぞれ精製して、その構成蛋白を高分解能のゲル電気泳動で分析した。これらの結果から、VO 因子は、ウイルス粒子表面に存在する、VP4C と呼ばれる蛋白成分であることが推定された。

この研究は、ふるくからの問題に、あたらしい研究手段をたくみに導入して接近したものであり、分析のすすめかたも着実である。得られた知見は、ボックスウイルスの成熟機構に関連して重要であるとともに、A 型封入体の形成機構、生物学的意義を考えるうえできわめて興味あるものであって、この分野の研究の今後の進展に多くの示唆を与えるものである。

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。