

氏 名	姫 野 道 夫 ひめ の みち お
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 157 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	BIOCHEMICAL STUDIES ON NUCLEIC ACID OF NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS OF THE SILKWORM (カイコ核多角体病ウイルスの核酸生化学の研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小野寺幸之進 教 授 満 田 久 輝 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 (*Borrelina bombycis* (Paillot)) とはカイコ (*Bombyx mori* Linné) の細胞核内で多角体とよばれる封入体を形成し、いわゆる膿病を発病させるウイルスである。近年ウイルスの核酸生化学の研究が盛んに行なわれているが、昆虫ウイルスの分野ではほとんどなされていなかった。本論文はカイコ核多角体病ウイルスの核酸 (DNA) を対象とする生物化学・分子生物学の見地での追究とウイルス感染に伴う宿主蚕体の核酸および脂質の変動とその意義について行なった研究を論述したものである。

(1) カイコ核多角体病ウイルス感染蚕体の核酸および脂質の変動

宿主蚕体におけるウイルス増殖の様相を把握するため健康蚕にウイルスを接種し、経時的に STS 法によって核酸の分画を行ない、RNA および DNA の量的変化を追跡した。その結果によると、ウイルス接種時から DNA の増加がはじまり、3～4 日目に急激な増加がみられ、カイコの死にいたるまでつづく。これはこの時期にウイルスの急激な増殖がおこることを示す。一方、RNA はウイルス接種の翌日から増加がはじまり、カイコの死亡までつづく。このことはウイルスの生成・増殖に必要な種々の素材の合成に必要な酵素に対する messenger RNA などが合成されていることを示すものである。

細胞内における核酸やタンパク質の合成と脂質との関連性が示唆されているので、カイコの体液のリン脂質、ステロール類、および脂肪酸の変動を追究した。その結果、ウイルス増殖に伴ってコレステロールとリン脂質の増加がおこり、とくに病気の末期に急激に増加することがわかった。また脂肪酸についてもウイルス感染蚕において増加することが確認された。

(2) 多角体 RNA の抽出とその性質

多角体タンパクを炭酸ナトリウム溶液でとかし、超遠心分離によってウイルス粒子を除去した溶液を 10% NaCl 溶液で抽出し、これをメチル化アルブミン (MAK) カラムで精製して超遠心パターンでも単一のピークを示す RNA を得た。このものは $S_{20,w}=7S$ を示し、その塩基組成は宿主蚕体の RNA と組成

比が異なっている。このことは多角体 RNA はウイルスに由来することを示す。

(3) 感染性ウイルス DNA の抽出とその性質

前述の方法に従って調製したウイルス粒子を 0.1 M 炭酸ナトリウム—炭酸水素ナトリウム緩衝液に溶解し、同溶液で 3 日間透析する。溶解しないウイルス粒子を遠心 ($40,000 \times g$, 1 hr) 除去し、溶液に硫酸を加えてウイルスタンパクを沈殿させ、遠心除去の後、0.15 M NaCl-0.015 M クエン酸ナトリウム溶液に対して透析し、硫酸を除く。この溶液を MAK カラムに通して単一のピークを示す DNA 溶液を得た。この DNA はカイコ（幼虫、サナギ）に対して核多角体病を発病させる能力をもっていた。DNA を DNase で処理すると感染力を失うが、RNase 処理のときは感染力を保持している。すなわち、この DNA は核多角体病ウイルスの本体をなす感染性 DNA である。

この DNA の核酸化学的検討の結果は二重らせん構造をもち、その沈降定数は $S_{20,w}=13 S$ を示す。この値から計算すると約 2×10^6 の分子量となる。

(4) FL 細胞中での多角体形成

FL 細胞はヒト羊膜由来のものでカイコ細胞とは系統的に全く疎遠のものである。この FL 細胞に 2 M $MgSO_4$ 中に希釈した感染性 DNA を接種し培養をつづけたところ、細胞核内に六角形の顆粒の生成が光学顕微鏡によって観察された。この顆粒はカイコ由来の多角体と形態ならびに染色性で全く区別できず、またカイコ（幼虫、サナギ）に接種すると核多角体病が発生した。これは FL 細胞内でウイルスが産生されたことを示すもので、本来はこのウイルスに非感受性の細胞が感染性 DNA の作用によってウイルスに感染したことを立証するものである。

論文審査の結果の要旨

近年核酸が生命現象の根幹となる物質であることが確立され、それとともにウイルス核酸の研究も目ざましい進展をみたが、ウイルスの領域で独自の部門をしめる昆虫ウイルスについては核酸生化学的な追究はほとんどなされていなかった。カイコ核多角体病（膿病）ウイルスは昆虫ウイルスの代表的なものであるが、約 20 年前、この病気の本体がウイルスであることが明らかにされた (Bergold)。その後 DNA 型ウイルスであることが報告されたが、核酸生化学ないしは分子生物学の立場での研究はほとんどされていなかった。

著者はカイコ核多角体病ウイルスの核酸生化学・分子生物学の立場での解明を目的としてこの研究を行ない、このウイルスから感染力をもった DNA を抽出することに成功した。なおこの DNA の核酸化学的諸性質を明らかにしている。これは昆虫ウイルスの分野では初めてである。

さらにこの感染性 DNA を用いてウイルスに特異的な宿主細胞と系統的にかけはなれた他の細胞にウイルスを感染させることに成功するとともに、一方、多角体タンパクから抽出した RNA の性質を明らかにし、これらの核酸のもつ分子生物学的意義を示唆している。なおウイルス感染に伴う宿主蚕体の核酸および脂質の変動をしらべ、ウイルス DNA 増殖との関連性を指摘している。

このように本研究は核酸の生化学ならびに分子生物学の分野に貢献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。