

氏 名 工 藤 肇

授 与 学 位 医 学 博 士

学位授与年月日 昭和37年3月7日

学位授与の根拠法規 学位規則第5条第2項

最 終 学 歴 昭和29年3月 東北大学医学部卒業

学 位 論 文 題 目 仙台ウイルスの純度の評価に関する研究

論文審査委員 東北大学教授 石 田 名 香 雄

東北大学教授 鳥 飼 龍 生

東北大学教授 中 村 隆

工藤肇提出論文内容要旨

ウイルス殊に MYXOVIRUS の精製はワクチンの製造という実用的な面からのみならず、宿主成分の混入と関連して、このウイルス粒子の構成更には増殖機構の解明という点で重要な問題である。そこで、仙台ウイルスを用いてウイルスの材料中に混入している宿主成分をとりのぞき、出来るだけ純度の高いウイルスを得る方法についての研究を行なつた。又得られた材料の純度を蛍光抗体法を応用することによつて簡単且迅速に検定し得る事を見出した。

これ迄報告された MYXOVIRUS の精製法の多くは感染価を低下させる欠点を有していたが、赤血球吸着溶出法及び燐酸アルミニウムゲル法はこの点においてすぐれている。発育鶏卵で増殖した仙台ウイルスは溶血能をもつているので、燐酸アルミニウムゲル法による精製の基礎的研究を行ない、これを才一報に報告した。

10 mg の燐酸アルミニウムゲルは最大約 15,000 赤血球凝集価のウイルスを吸着し得る。ウイルスのゲルへの吸着は 4°C で速に行われ、溶媒の塩類濃度及び pH が低下すればする程吸着し得るウイルス量は増加する。従つて蒸留水を用いた際最も吸着率が大である。溶出の際は吸着の際と逆に溶媒の塩類濃度及び pH が高くなればなる程、溶出して出てくるウイルス量は増加する。pH 8.0, 0.25 M の燐酸緩衝液を用いて 3 回溶出をくりかえすとほぼ合計して吸着されたウイルスの殆んど全量が溶出して来る。

この様にして得られた精製ウイルスは 1 mg 炭素あたり 682,000 血球凝集価を有する純度の高いウイルスで、超遠心による沈降分析では 1100S の単一成分のみを示し、粗ウイルス材料中に含まれる沈降恒数の小さい宿主成分はみられなかつた。

以上述べた様な方法で得られた精製ウイルスを蛍光抗体法で検討してみると、極めて純度が高い事を才 2 報で報告した。この方法は抗原抗体反応をのせガラスの上でおこさせ、これに Fluorescein isothiocyanate をラベルした抗家兔グロブリン山羊血清グロブリンで染色し、蛍光顕微鏡で蛍光を観察するもので、Coons の間接法を応用したものである。発育鶏卵から得られた正常宿主成分の家兔免疫血清をつくり、正常抗原と反応させると著明な蛍光をみる事が出来た。この抗血清を超遠心のみで得られた粗ウイルス材料と反応させ蛍光抗体で染色してみると、やはり中等度の蛍光をみとめたが、一方燐酸アルミニウムゲル法で精製した材料は殆んど蛍光を発せず、かなり純度の高い材料が得られた事を示している。

粗ウイルスを家兎に免疫して得られた抗血清は、螢光抗体法でみると宿主抗原と反応してかなりの螢光を發した。この抗血清を正常漿尿膜より得た乾燥粉末で吸収するともはや宿主抗原とは反応しなくなつた。この吸収血清は尙精製ウイルスと反応して特異的な強い螢光を發する。

このウイルスにのみ特異的に反応する因子血清や、前述の宿主抗原抗血清を用いる事により、抗原の同定、抗体の定量、ウイルスの純度検定等をのせガラスの上で簡単に行なう事が出来、この螢光抗体スポット法の今後の応用面はかなり広いものと考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

発育鶏卵漿尿腔内で培養した Myxovirus (インフルエンザウイルス群) は他のウイルスと異なり Fluorocarbon法を用いて宿主抗原を除去し得ない。著者は燐酸アルミゲル法を用いて短時間の操作でウイルス感染価を低下せしむる事なく精製を行いうる方法をあみ出したばかりでなく、吸着時の特異性・溶出時の特異性を条件づけた事によりほぼ理論値に近い仙台ウイルスの精製標品を得た。更に宿主抗原に対する蛍光抗体を製作し、ウイルス精製の如何なる過程に於て之等宿主抗原を除去し得るか簡易に証明する方法を見出した。今後の利用価値は大きい。ただし今後の問題点として所謂精製ウイルスにどれほど微量の宿主抗原がくみ入れられているか証明を待つものと思う。