

## 審査の結果の要旨

杉田 征彦

本研究は、公衆衛生上最も重要な病原体のひとつであるインフルエンザウイルスの粒子形成機構を明らかにすることを目的とした。様々な電子顕微鏡法を用いて、ウイルス粒子の形状および粒子内部へのゲノム取込み機構を微細構造学的に解析し、下記の結果を得ている。

1. これまで、ネガティブ染色法の観察の結果から、インフルエンザウイルス粒子は、円状、だ円状、ひも状、あるいは不規則な形状を持つと考えられてきた。しかし、ウイルス精製の際に行う超遠心操作の前後でウイルス粒子の形状をネガティブ染色法によって比較解析した結果、不規則な形状のウイルス粒子は超遠心操作によるアーティファクトであり、インフルエンザウイルスの自然な形状は規則的な円状、だ円状、あるいはひも状であることが明らかになった。
2. インフルエンザウイルス粒子の構造強度に重要なウイルスたんぱく質を明らかにする目的で、野生型ウイルスおよびウイルス表面たんぱく質 M2 の細胞内領域を 11 アミノ酸欠損させた変異ウイルスを用いて超遠心前後の形状変化を比較した。その結果、野生型ウイルスに比較して変異ウイルスの方が超遠心後に不規則な形状の粒子を多く含み、その形状変化は有意に大きかった。このことから、インフルエンザウイルス M2 たんぱく質の細胞内領域がウイルス粒子の構造維持に重要であることが明らかになった。
3. 8 本に分節化したインフルエンザウイルスのゲノム RNA はそれぞれリボ核酸たんぱく質複合体 (RNP) を形成してウイルス粒子内に取り込まれている。本研究で電子線トモグラフィー法を用いて RNP を高い分解能で観察することによって、一分子のウイルス RNA 依存性 RNA ポリメラーゼが RNP の一端に結合することが明らかになった。また、免疫電子顕微鏡法を用いて、異なる方向の RNP が混在してウイルス粒子内へ取り込まれるというウイルス粒子形成機構が明らかになった。

以上、本論文は様々な電子顕微鏡を駆使してインフルエンザウイルスの粒子の本来の形状および、8 本の RNP が異なる方向でウイルス粒子内部へ取り込まれるという新たなゲノム取込み機構を明らかにした。本研究は、不明な部分の多いインフルエンザウイルス粒子形成機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。