

ウイルスからみた生命科学

野本 明男

2005-12-4

東大駒場授業

「†:このマークが付してある著作物は、第三者が有する著作物ですので、同著作物の再使用、同著作物の二次的著作物の創作等については、著作権者より直接使用許諾を得る必要があります。」

微生物

単独増殖

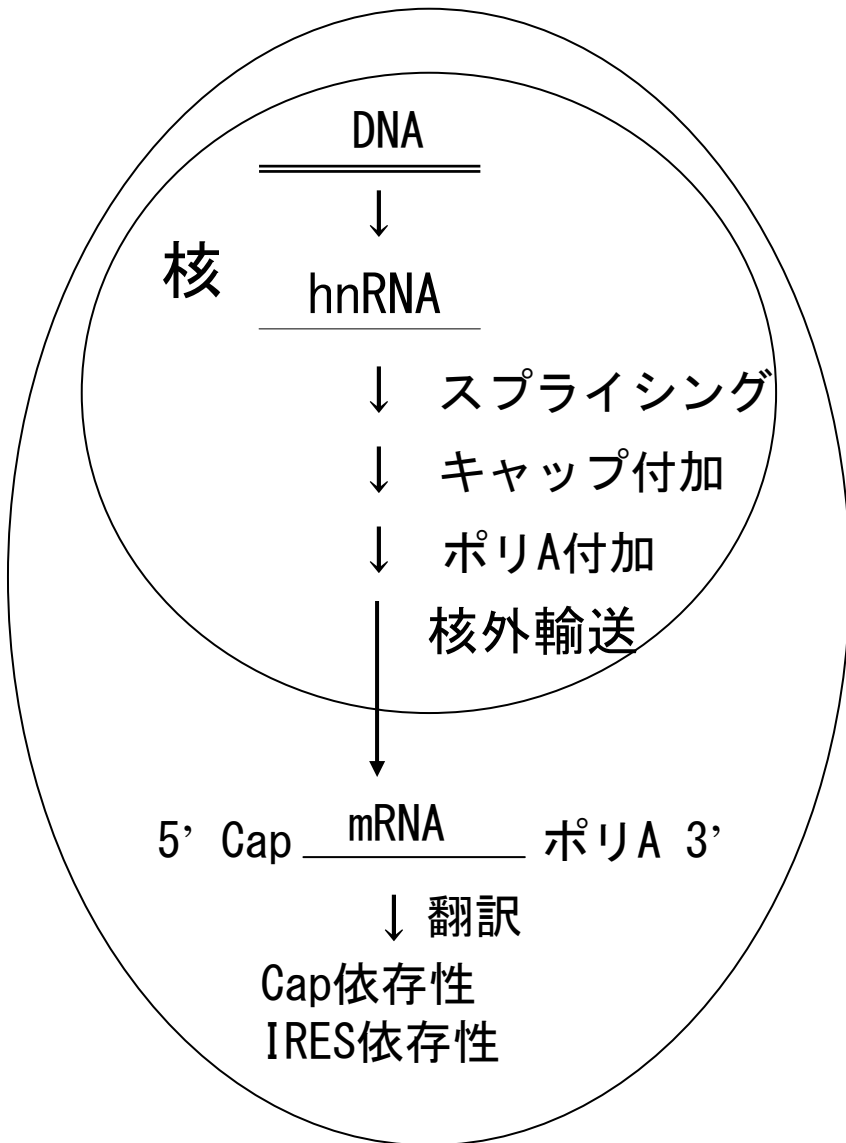
ゲノム

プリオン	非生物	×	×
ウイルス	非生物	×	○
リケッチア	原核生物	×	○
クラミジア	原核生物	×	○
細菌	原核生物	○	○
真菌	真核生物	○	○
寄生虫	真核生物	○	○

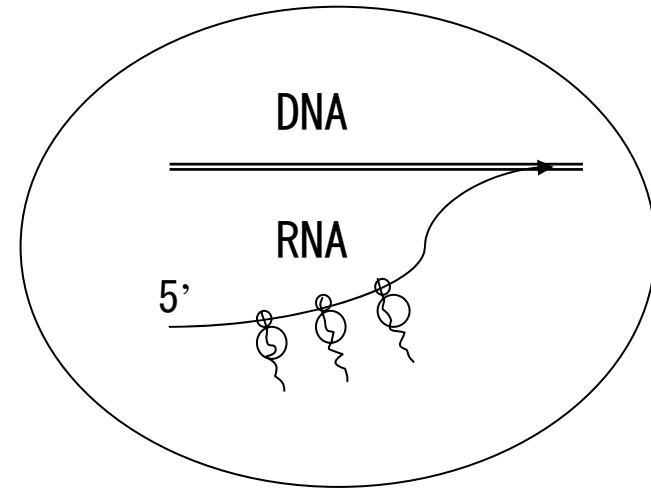
ウイルスが非生物であり、単独増殖 出来ない理由

- 栄養を取り込む機能が欠けている。
- エネルギー(ATP)産生機能が欠けている。
- タンパク質生合成が出来ない。

真核細胞

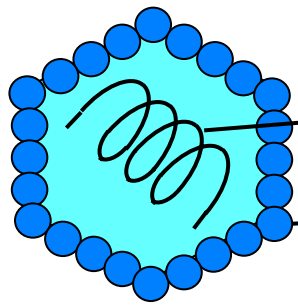


原核細胞



	真核細胞	原核細胞
RNAポリメラーゼ	3	1
mRNA	モノシストロニック	ポリシストロニック

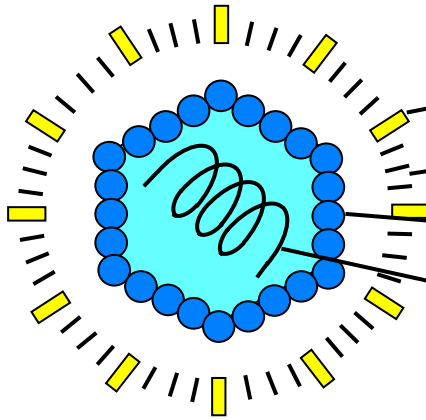
A



ウイルス核酸

capsid 蛋白からなる capsid

B



エンベロップ蛋白

脂質2重膜

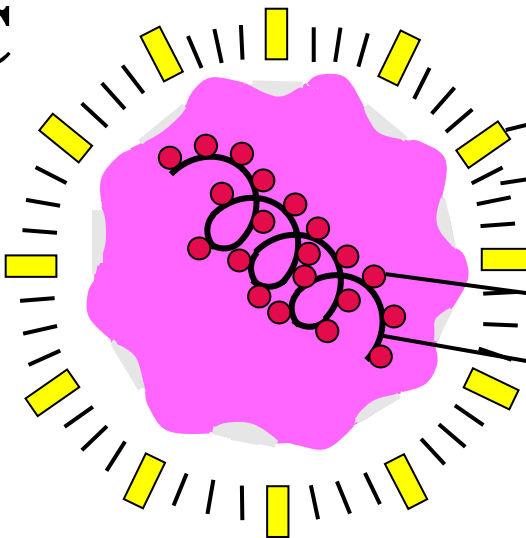
capsid

ウイルス核酸

} エンベロップ

} ヌクレオ capsid

C



エンベロップ蛋白

脂質2重膜

capsid 蛋白

ウイルス核酸

} エンベロップ

} ヌクレオ capsid

病原ウイルスの発見

1892年 Iwanowski

「タバコモザイク病の病原体は細菌口過器を通過する」

1899年 Iwanowski

「毒素の混入であると自ら否定」

1898年 Loeffler と Frosch

「ウシの口蹄疫の水疱から、細菌口過器を通過する
培養不可能な病原微生物が存在する」

FMDV : foot and mouth disease virus

1898年 Beijerinck

「タバコモザイク病がウイルスによって起こる」

ウイルス粒子の概念

1929年 Holmes

「TMVの定量法 (necrotic local lesion)」⇒ 精製可能

(注) 1949年 Enders 「ポリオウイルスの分離に細胞培養法」

1952年 Dulbecco 「ポリオウイルスのプラークアッセイ定量法」

1935年 Stanley

「TMVの結晶化」⇒ 生物学の分野に物理学者や化学者が参入

生物物理学

生物化学

分子生物学 など誕生

1936年 Bowen と Pirrie

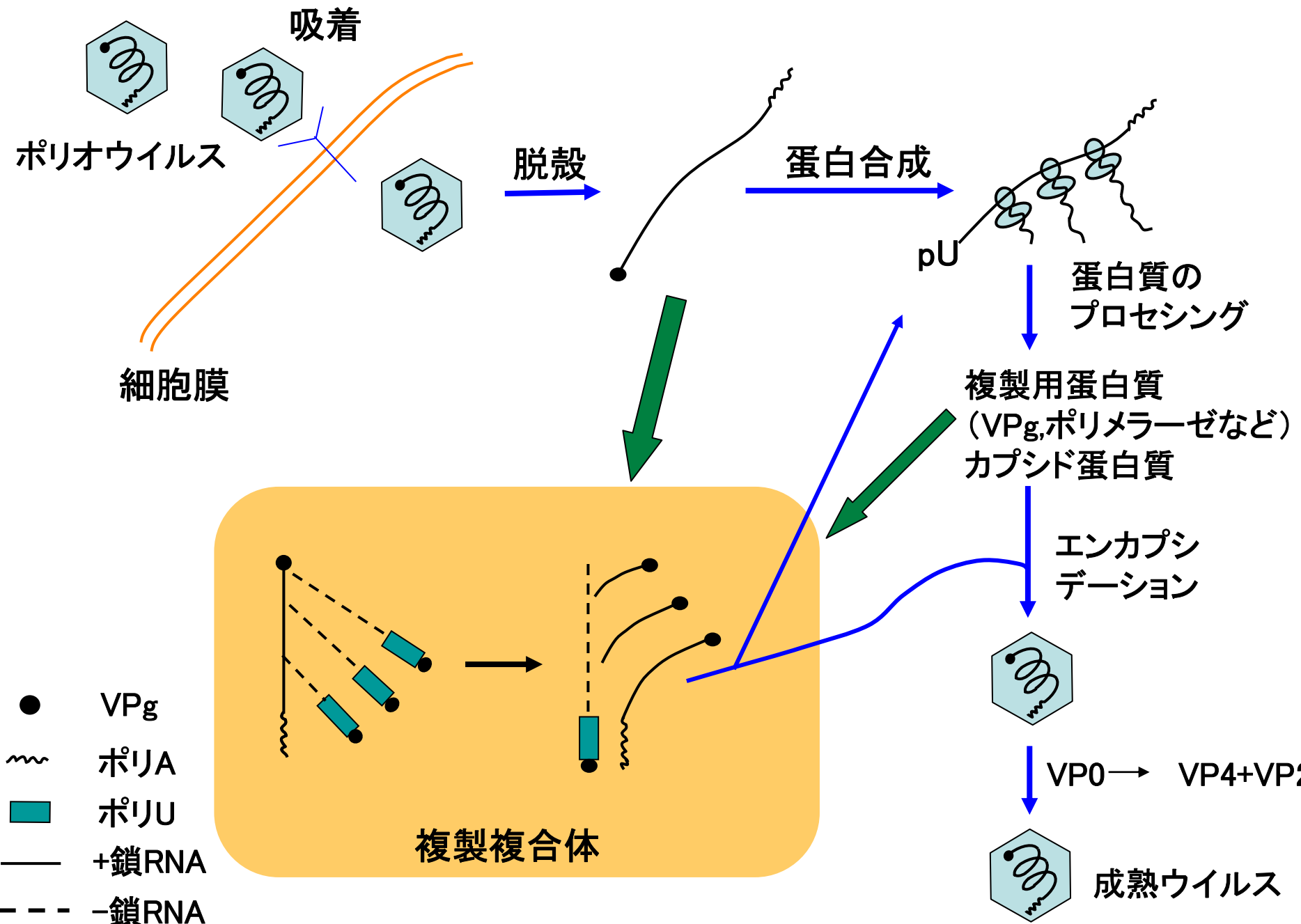
「TMVにRNAが存在」

ウイルスとは(1)

化学物質の集合体(非生物)

(例)ポリオウイルスの構造

$C_{331107}H_{489285}O_{130725}N_{97914}P_{7441}S_{2340}$
not including poly(A) and cations



ウイルスとは(2)

宿主との相互作用によって、
ライフサイクルを持つ(生物?)

Chemicals with life cycle

ウイルスを材料とした研究

複製機構

情報発現

形態形成

進化機構

遺伝子本体の構造

遺伝子工学

ウイルスを対象とした研究は、細胞のみを扱う研究に
比べ、生命科学を先取りすることができる

ウイルス複製研究から生まれた 生物学上重要な発見

逆転写酵素、トランスフォーミング遺伝子
(レトロウイルス)

キャップ構造 (CPV)

RNAスプライシング (アデノウイルス)

IRES (ポリオウイルス)

ウイルス学とは

- ウイルスと生体の両方を学び、その相互作用を研究する学問。
- 巾広い範囲を持つ(先端生命科学、疫学、臨床、国際医療協力など)。
- 研究の感覚を会得するまで比較的時間の掛かるAdvancedな学問。

ウイルス病原性研究へ

複製及び体内伝播の各過程における宿主分子群の同定

ウイルス特異的遺伝子産物による:

細胞変性効果

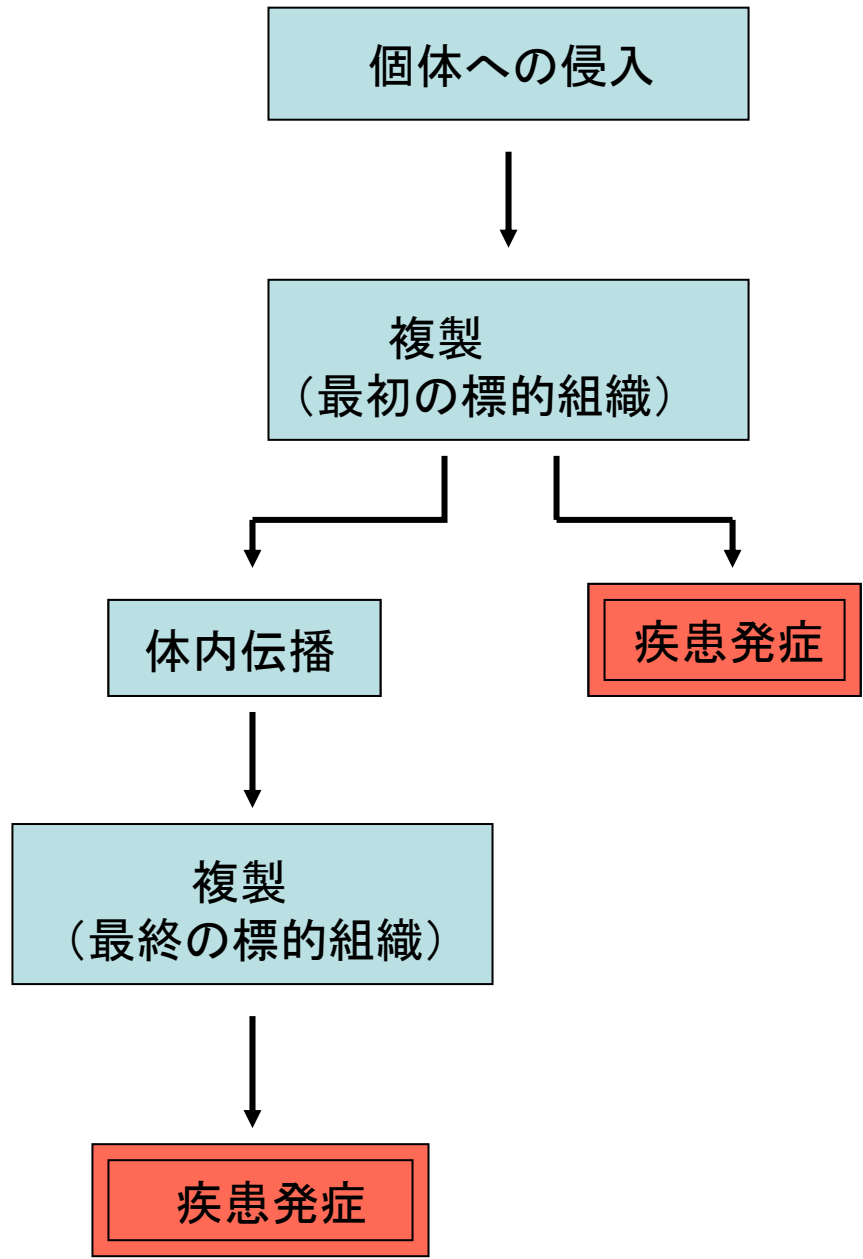
アポトーシスの阻害 → 不死化

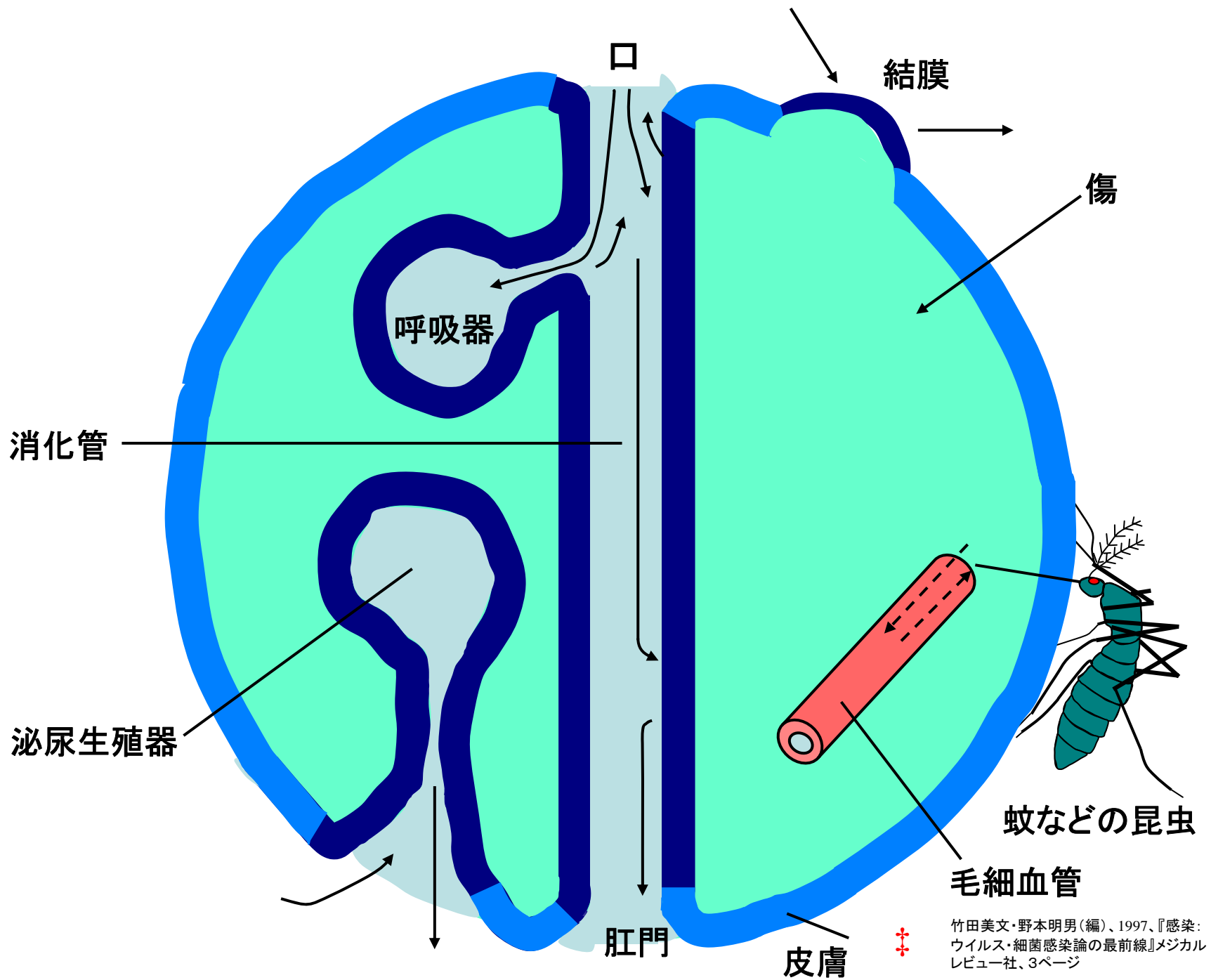
宿主防衛システムからの回避

ウイルスと宿主の間に形成される
自然生態系の研究(感染現象の解析)

Henle - Koch の 4 原則

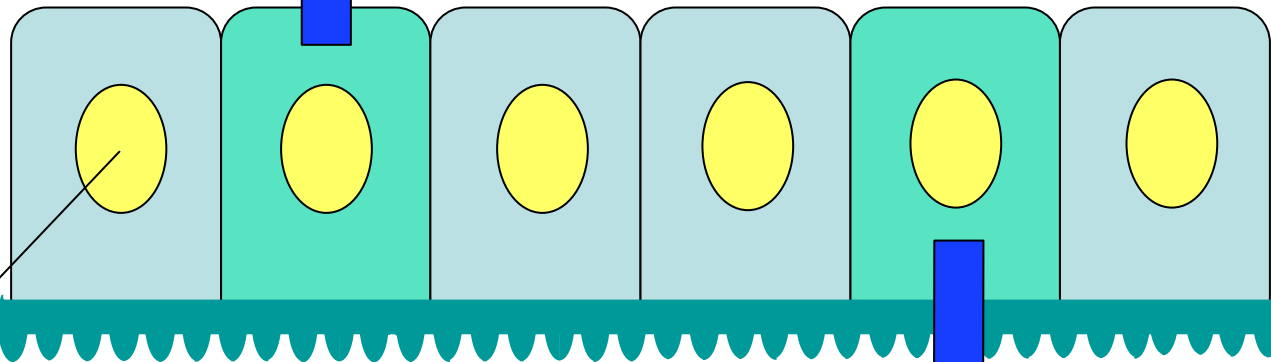
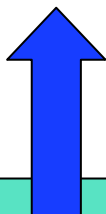
1. 特定の伝染病には特定の微生物が必ず証明されること。
2. その微生物を分離して培養できること。
3. 分離した微生物により、実験的に感染を起こさせ得ること。
4. 感染させた動物から再び同じ微生物を分離できること。





竹田美文・野本明男(編)、1997、『感染：
 ウイルス・細菌感染論の最前線』メジカル
 レビュー社、3ページ

apical surface
からのbudding

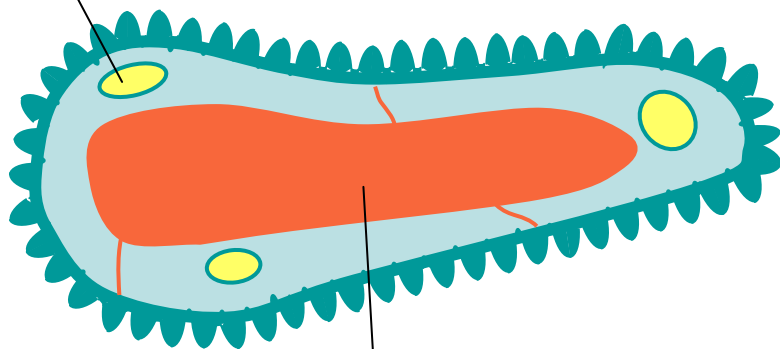


上皮細胞

基底膜

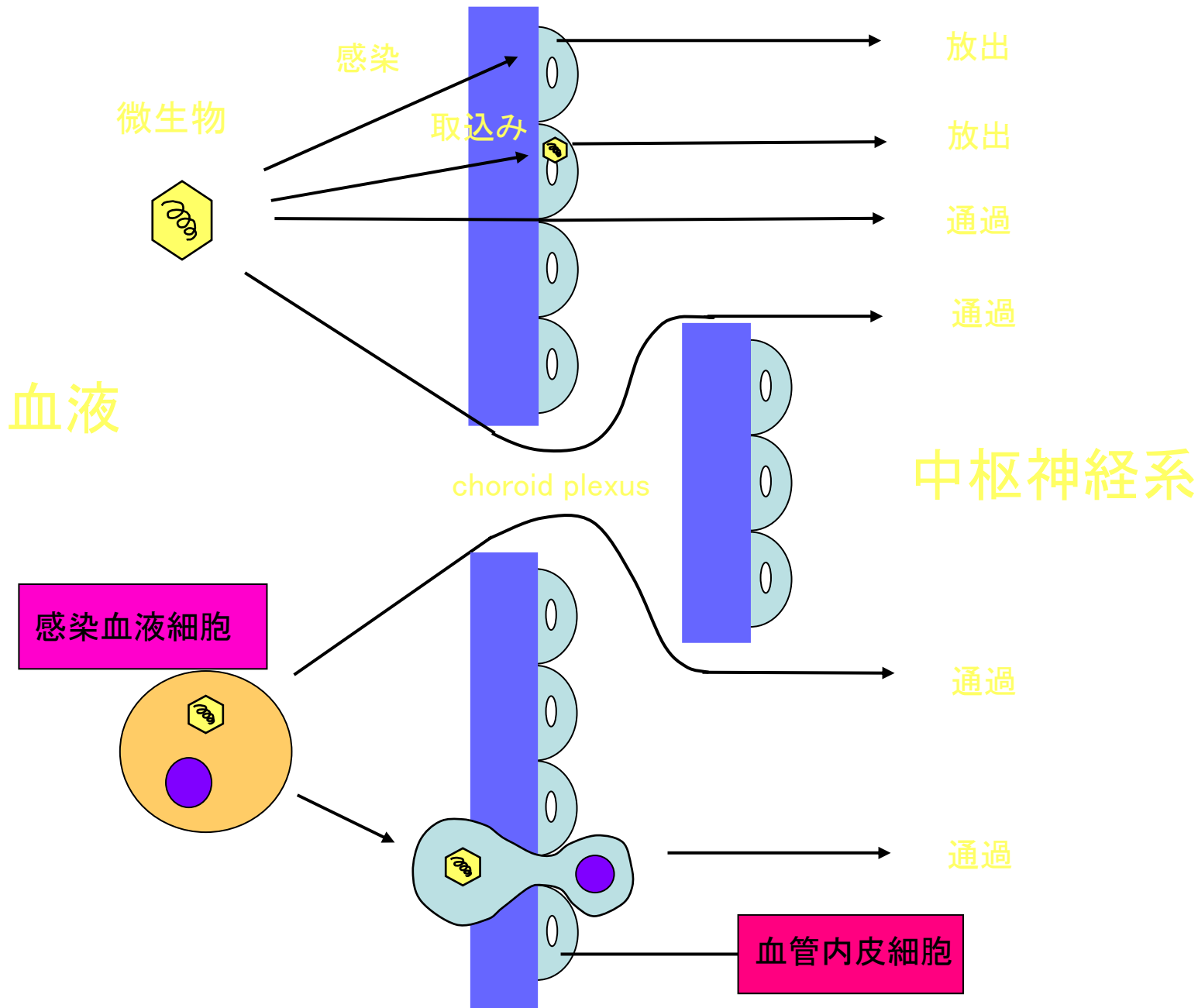
結合組織

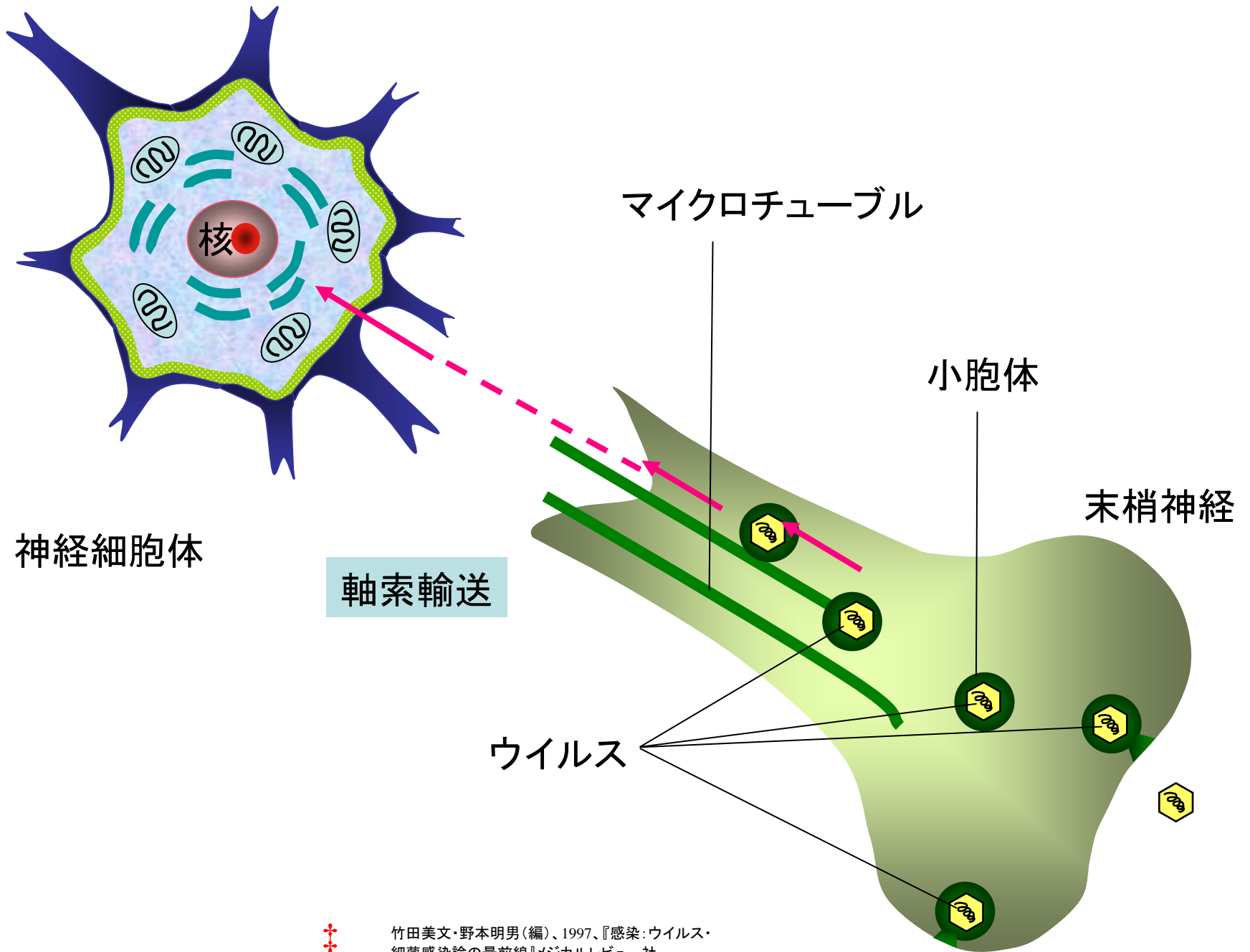
核



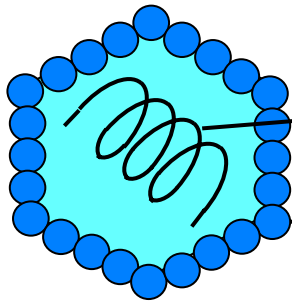
Basal surface
からのbudding

毛細血管





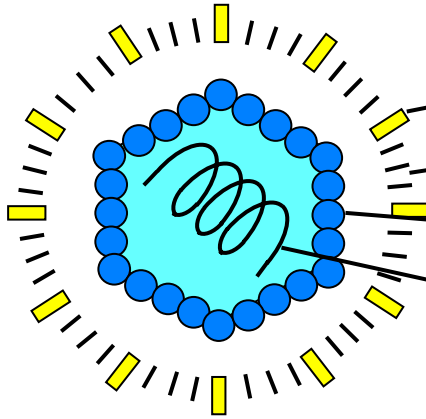
A



ウイルス核酸

capsid 蛋白からなる capsid

B



エンベロープ蛋白

脂質2重膜

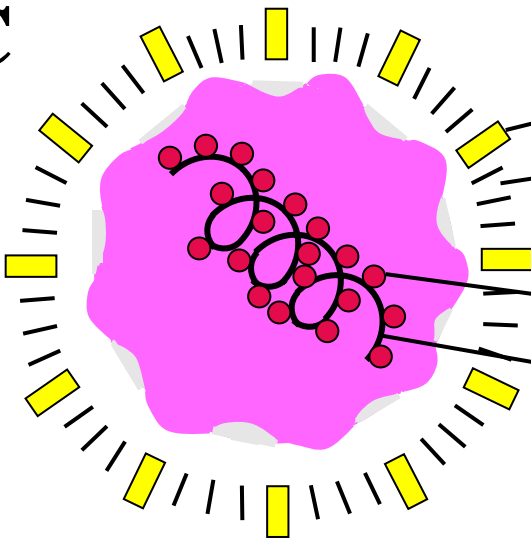
capsid

ウイルス核酸

} エンベロープ

} ヌクレオ capsid

C



エンベロープ蛋白

脂質2重膜

capsid 蛋白

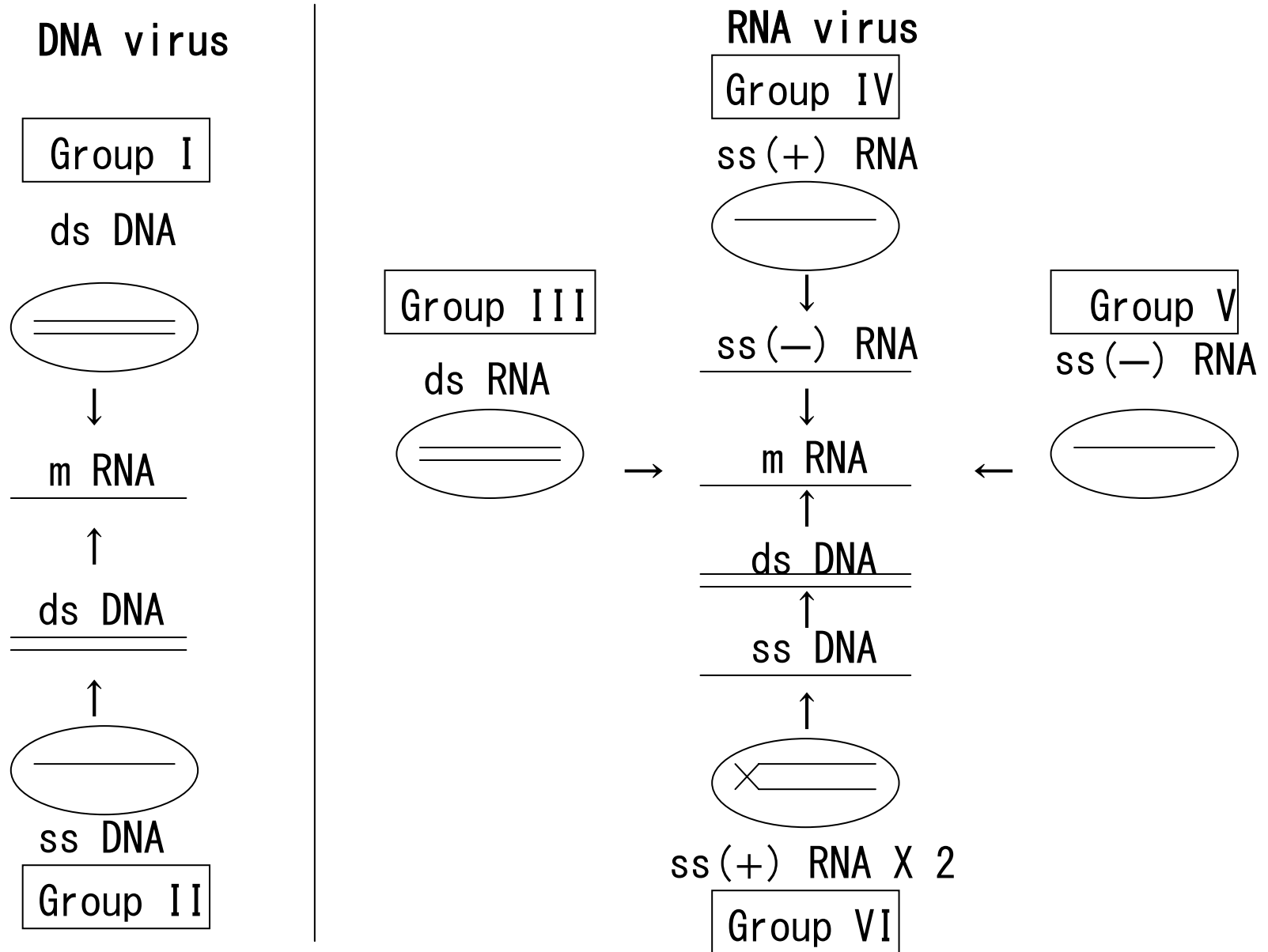
ウイルス核酸

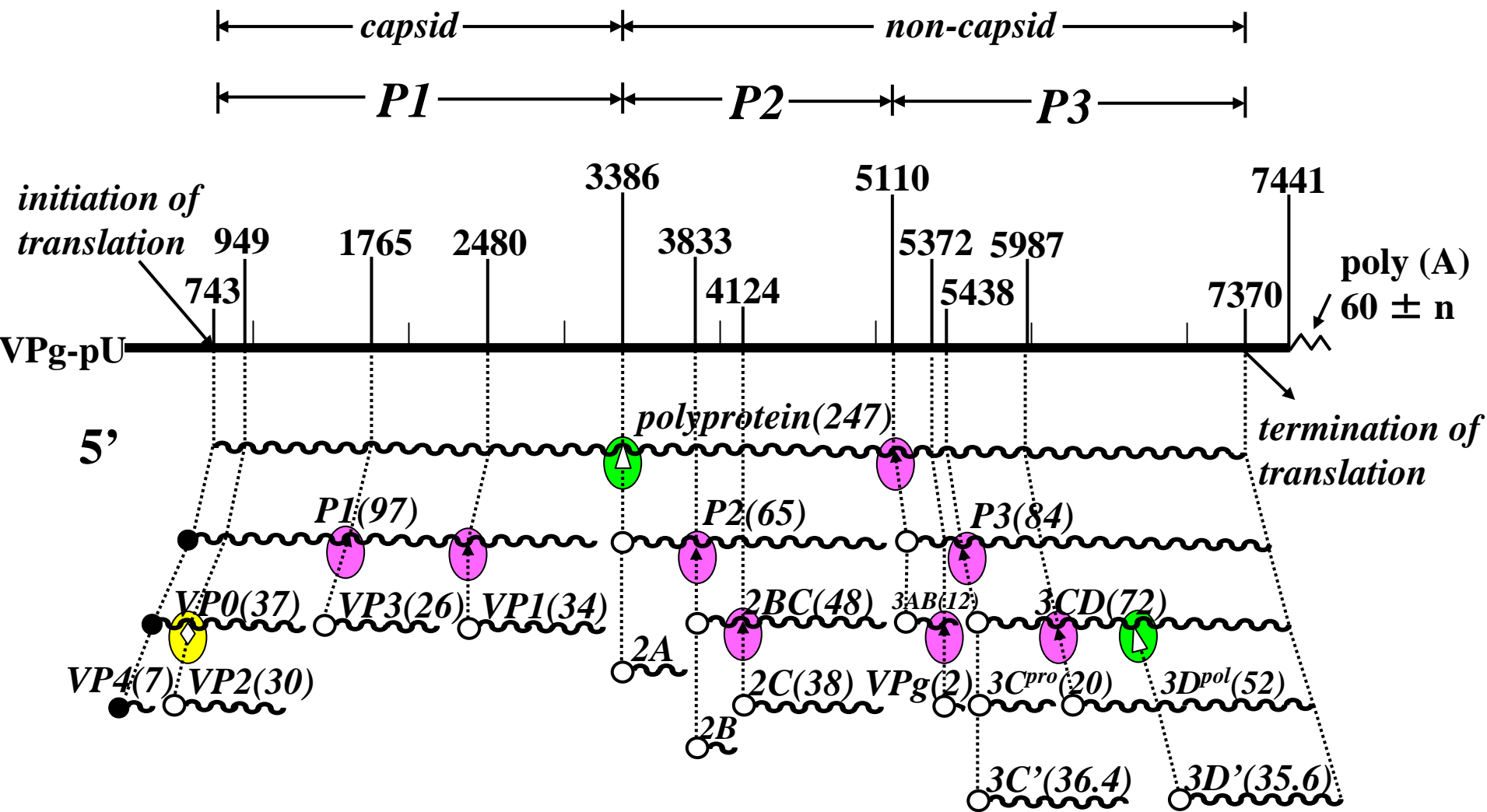
} エンベロープ

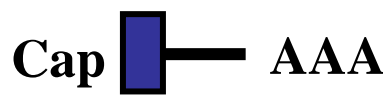
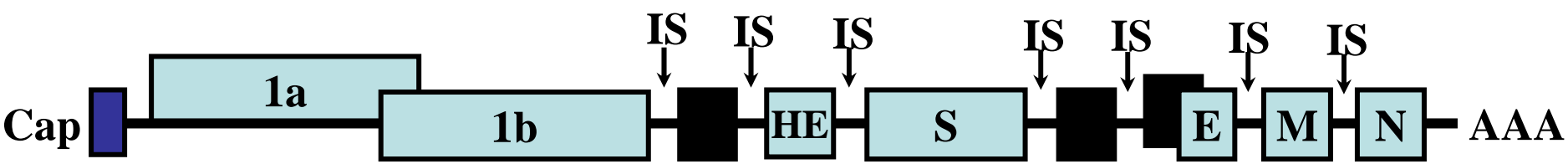
} ヌクレオ capsid



ウイルスゲノムの構造と遺伝情報発現様式による分類

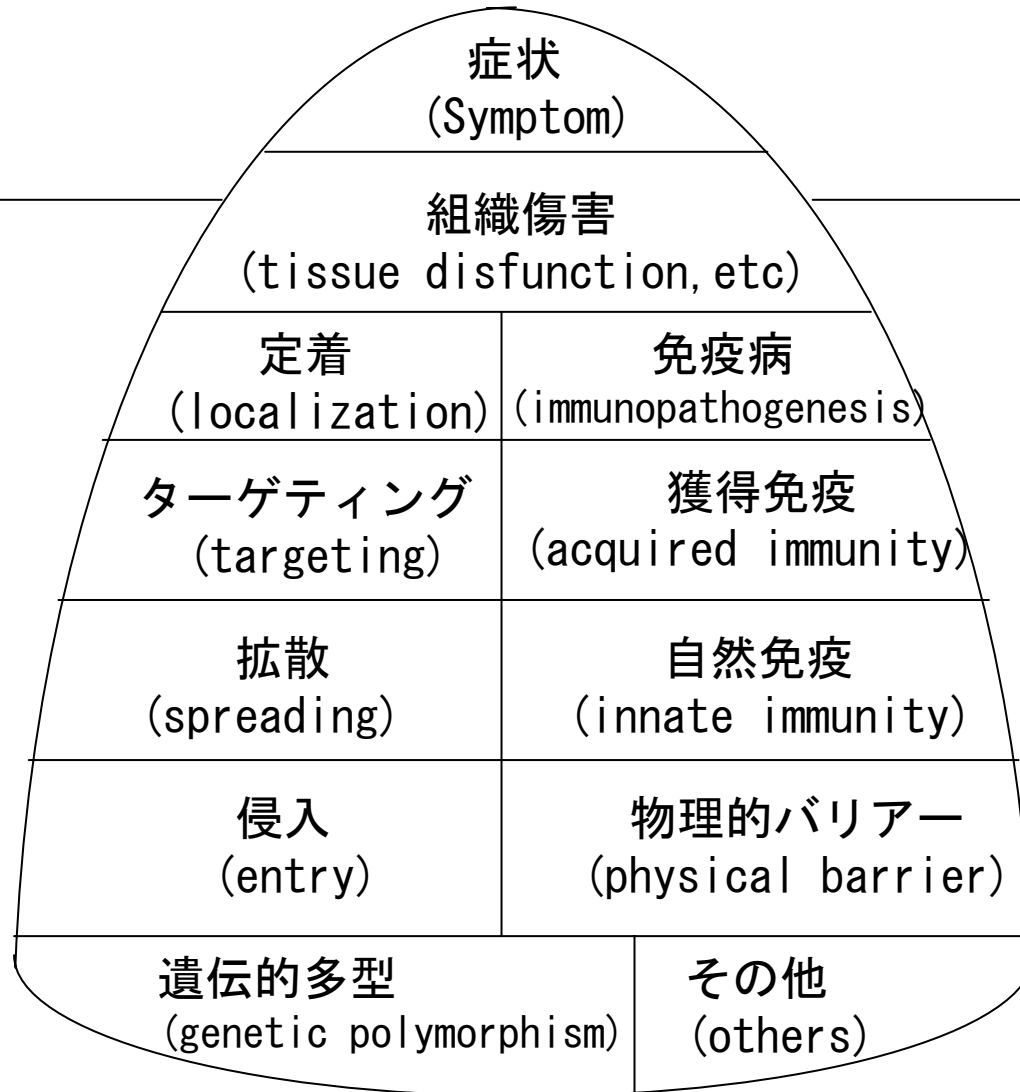




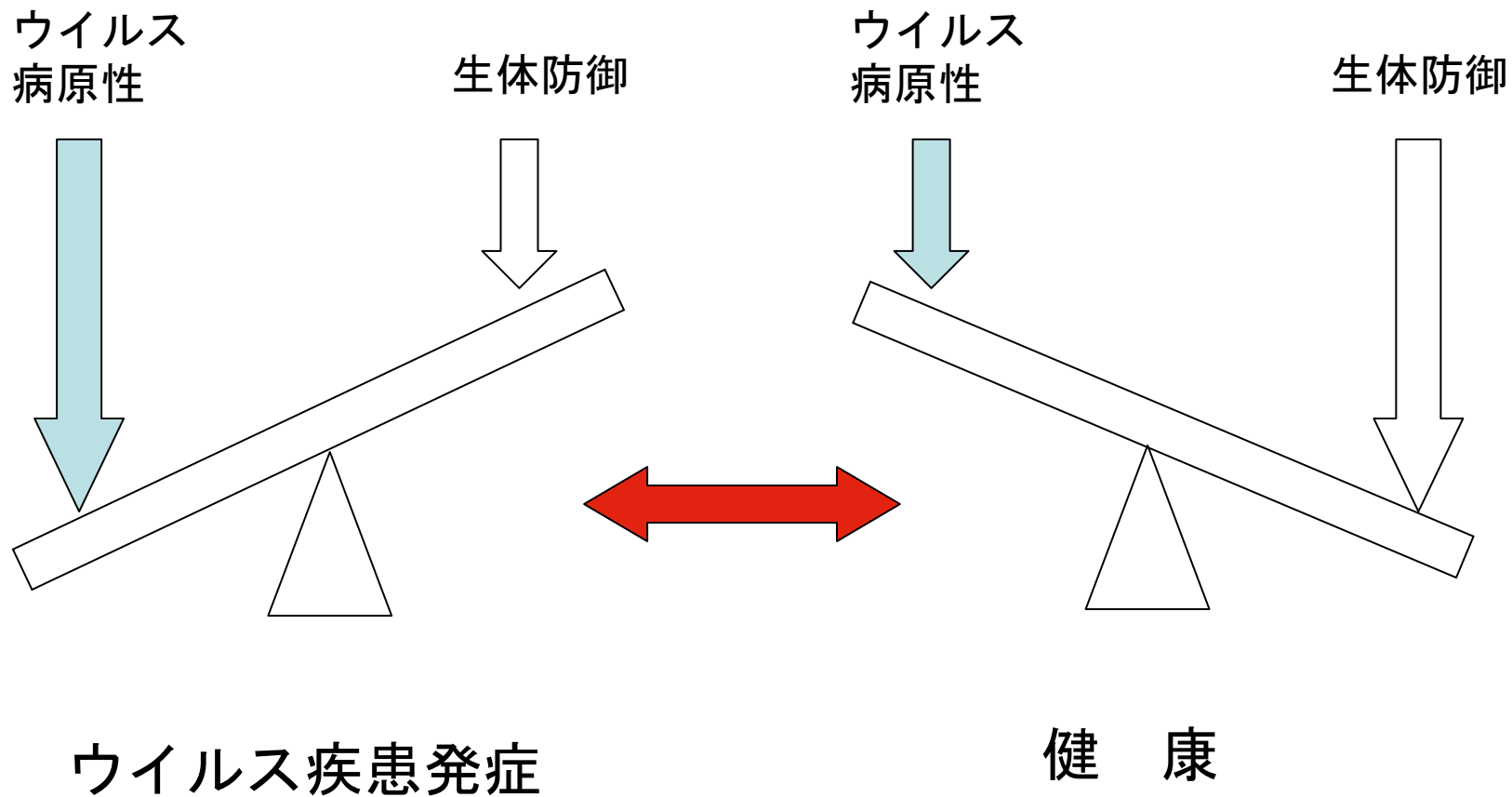


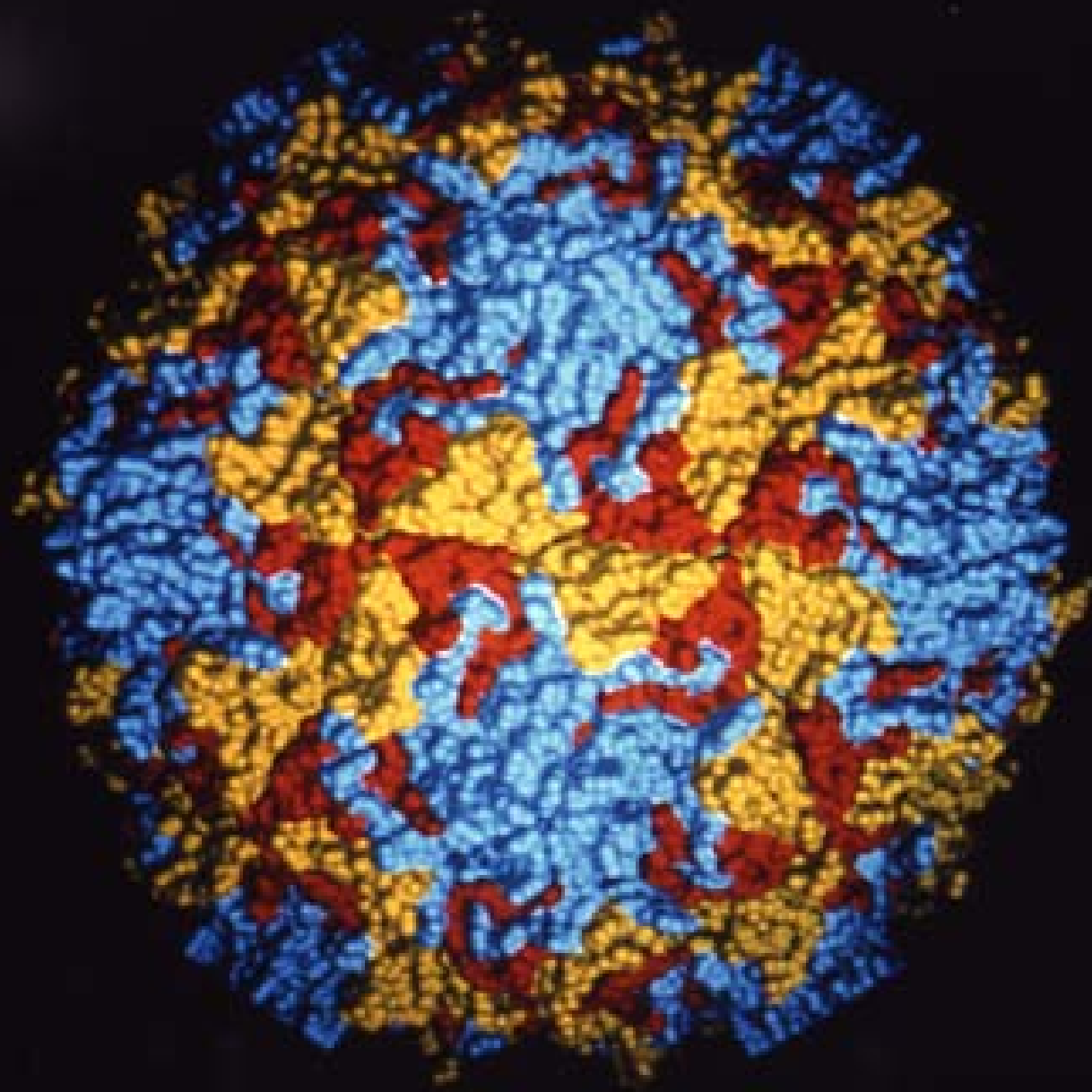
■ ; putative nonstructural protein
 IS ; conserved intergenic sequence

感染から発症までの過程（氷山説）



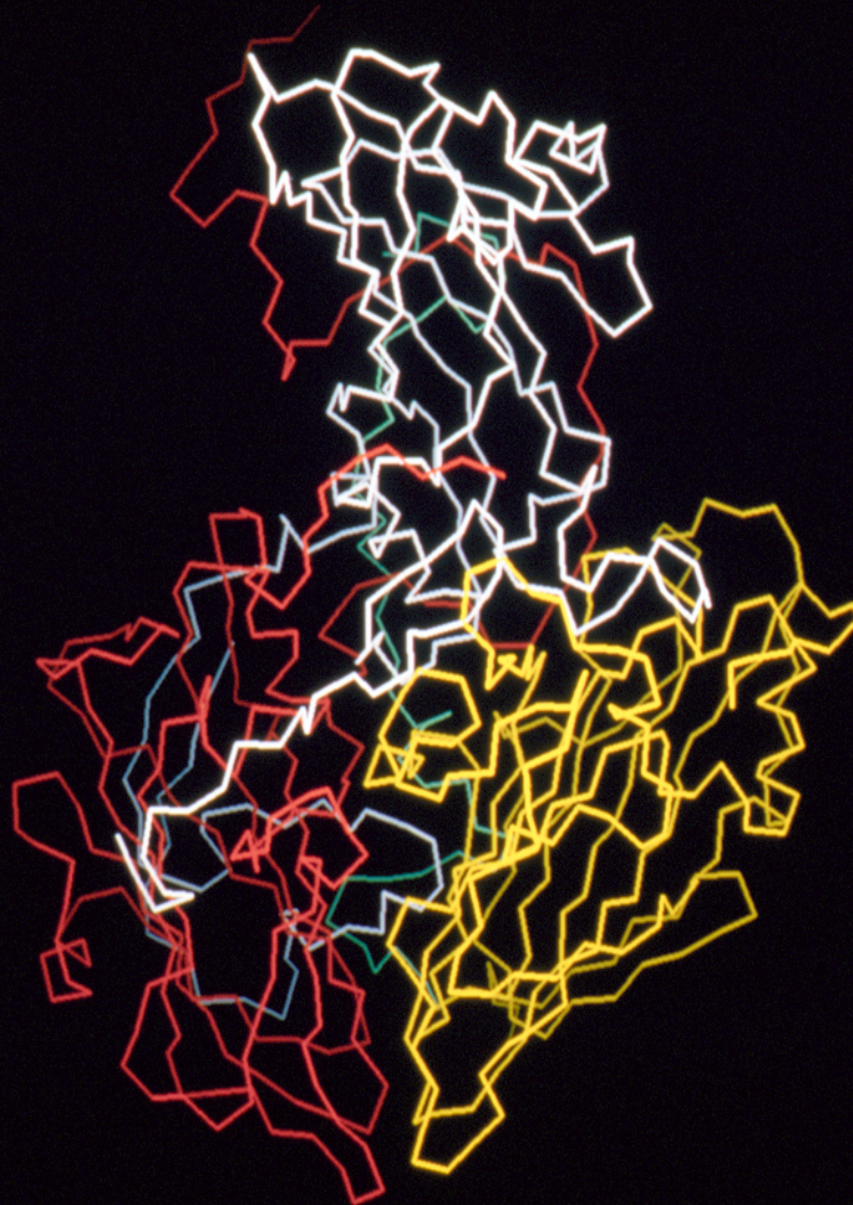
ウイルス病原性と生体防御





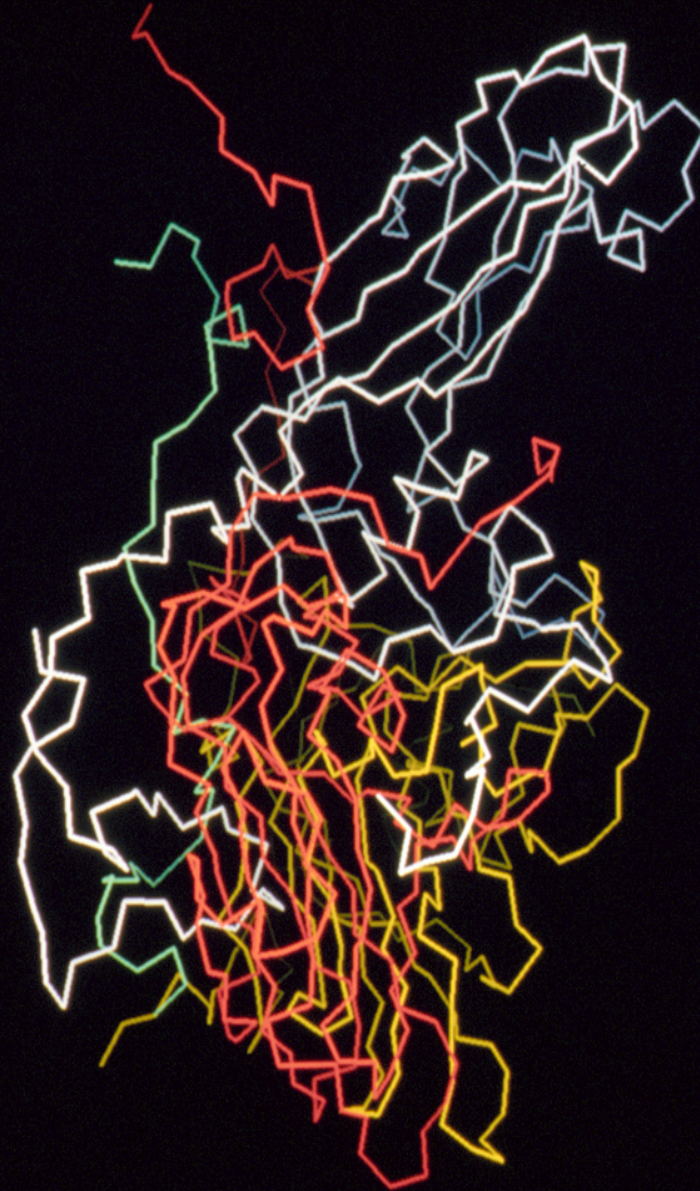
<http://hogle.med.harvard.edu/>

James Hogle氏がネットで公開している画像



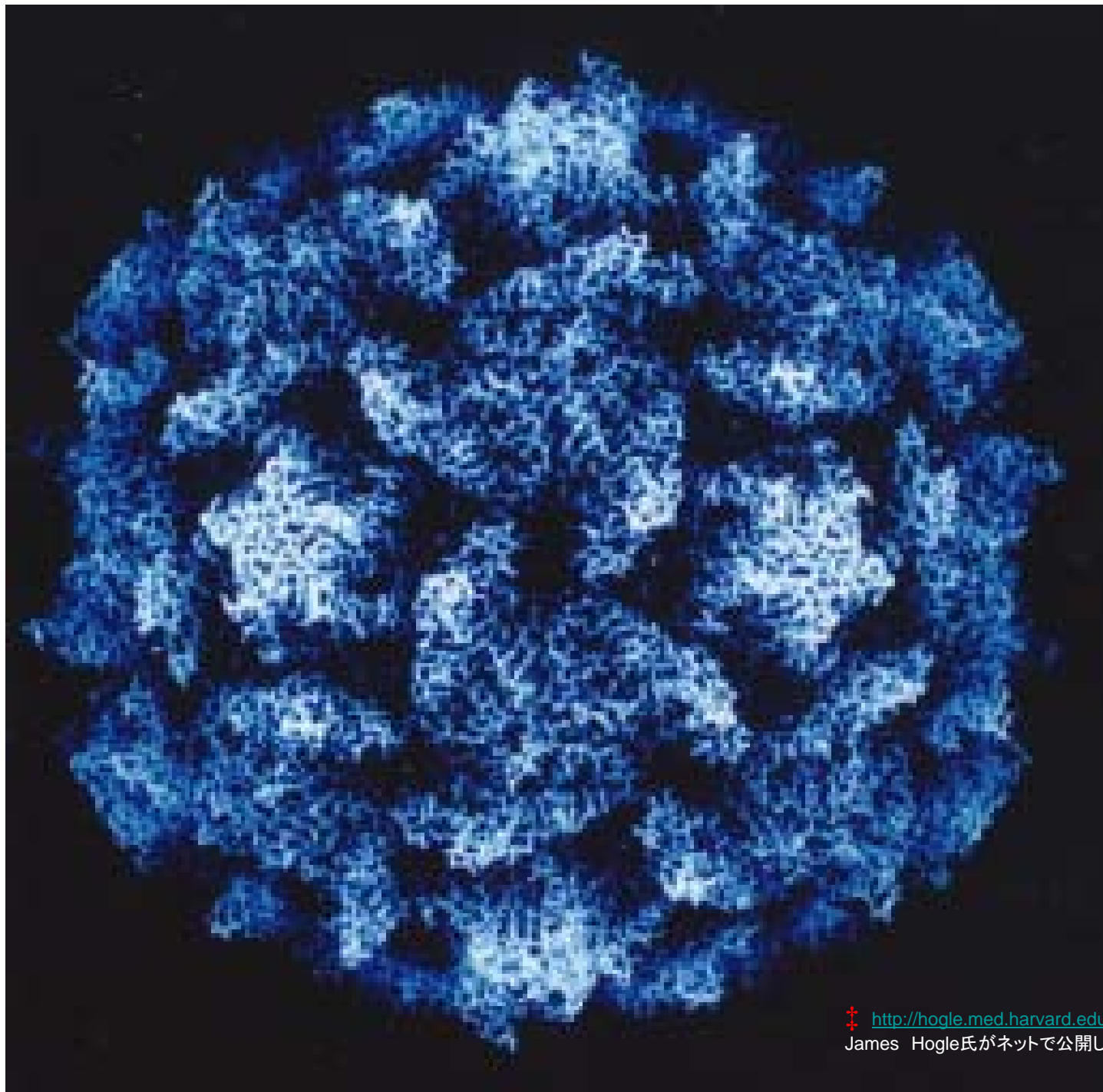
<http://hogle.med.harvard.edu/>

James Hogle氏がネットで公開している画像

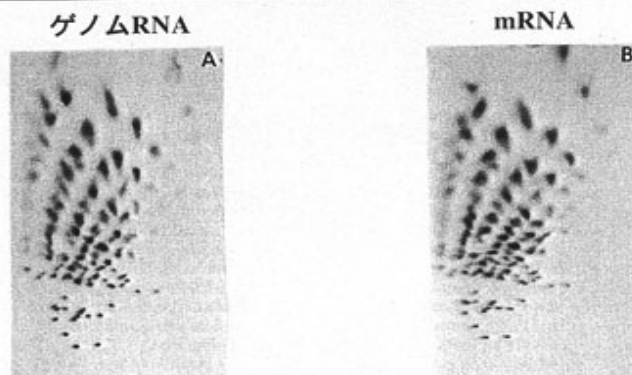


<http://hogle.med.harvard.edu/>

James Hogle氏がネットで公開している画像



RNase T1分解物の2次元フィンガープリント解析

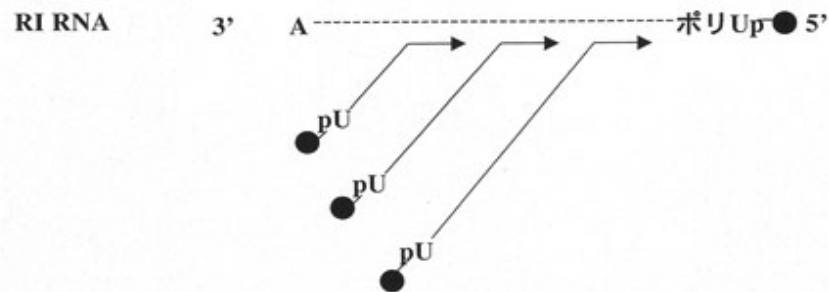


VPgの存在 (VPg: ●)

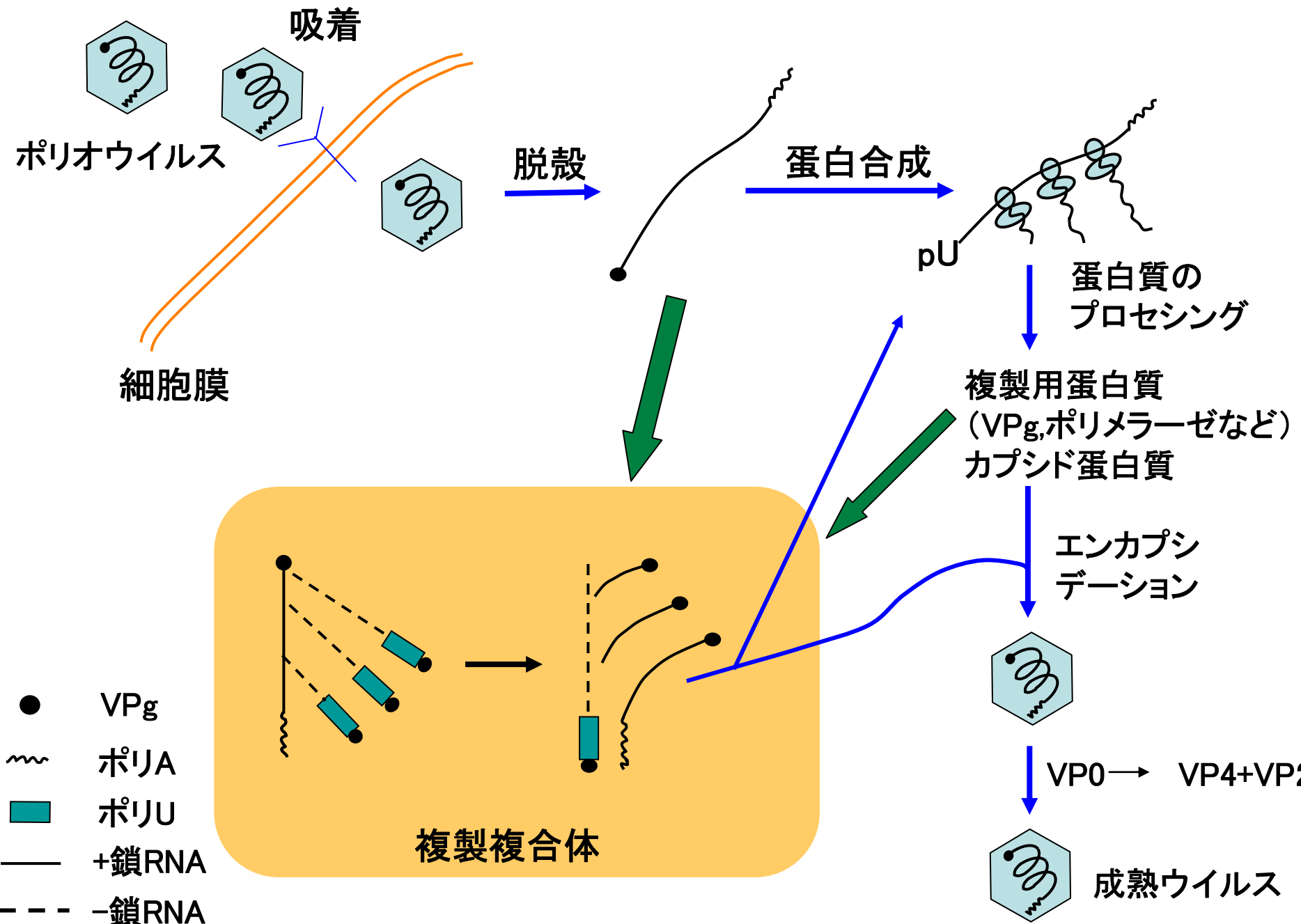
ゲノムRNA 5' ●pU ————— ポリA 3'

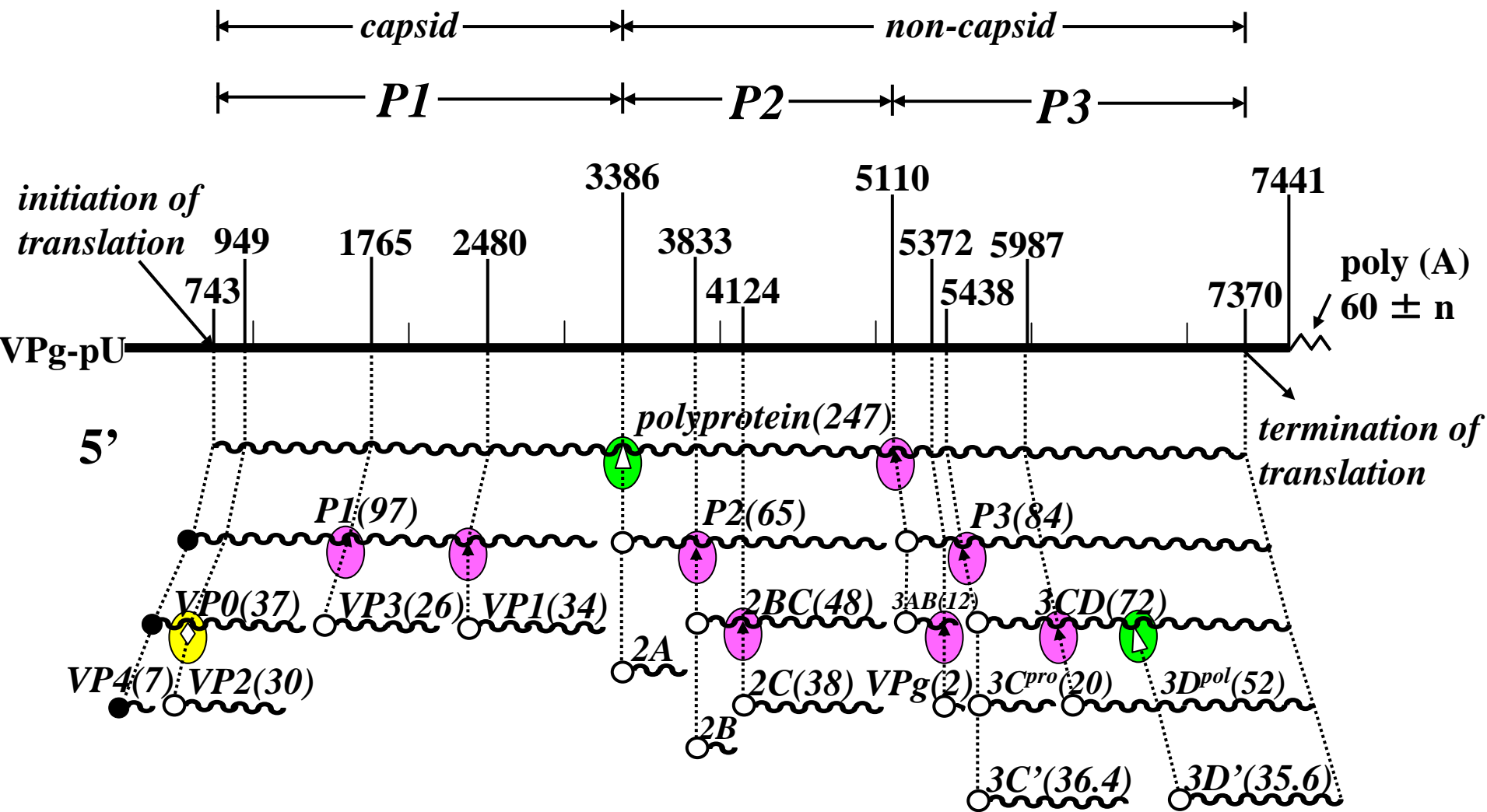
mRNA 5' pU ————— ポリA 3'

RF RNA 5' ●pU ————— ポリA 3'
3' A ポリUp ● 5'

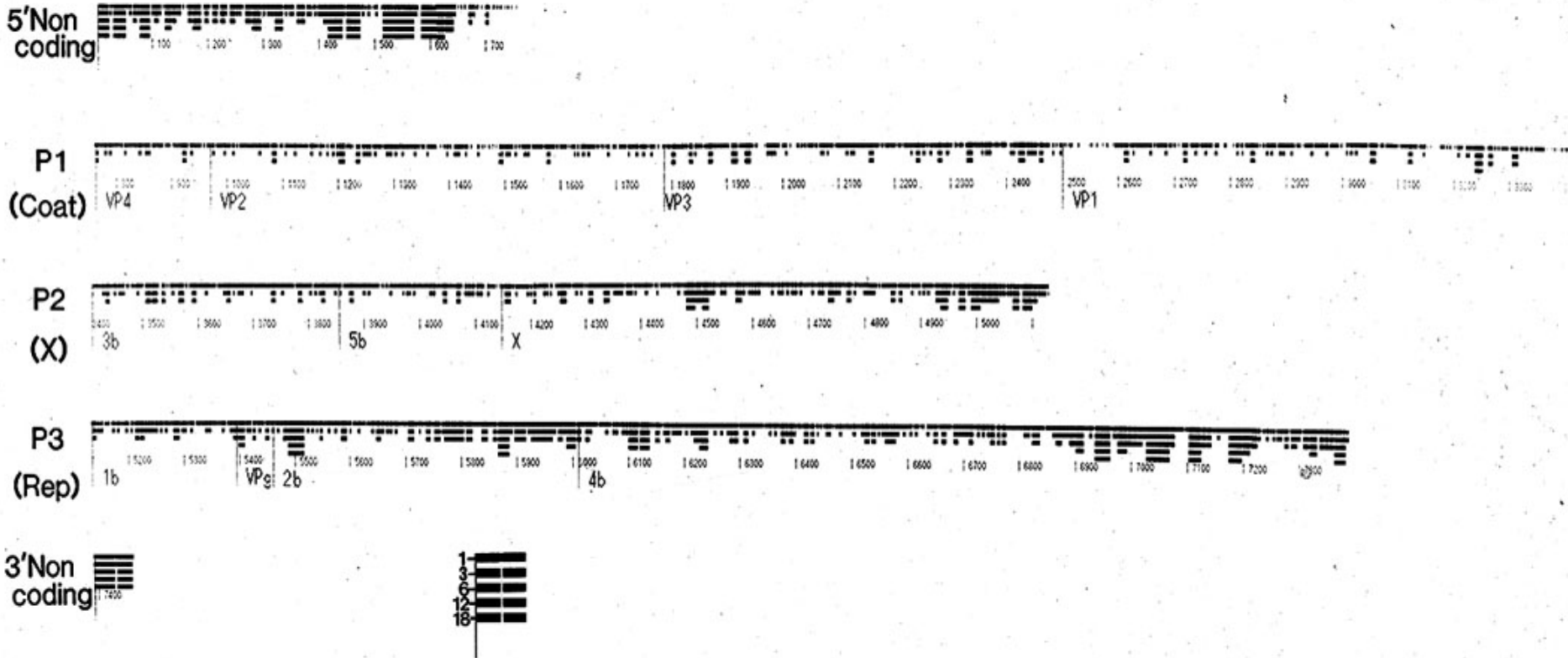


RNA合成開始のVPgプライマー説の提唱





Nucleotide Sequence Homology among Three Poliovirus Serotype Genomes

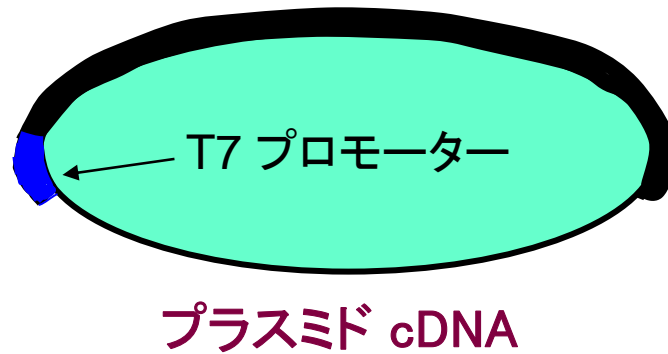


Haruka Toyoda, Michinori Kohara, Yutaka Kataoka, Toshiyuki Suganuma, Toshiko Omata, Nobumasa Imura and Akio Nomoto, *Journal of Molecular Biology*, Vol.174, 4, pp561-585, 1984

感染効率
(pfu / μg)



1×10^6

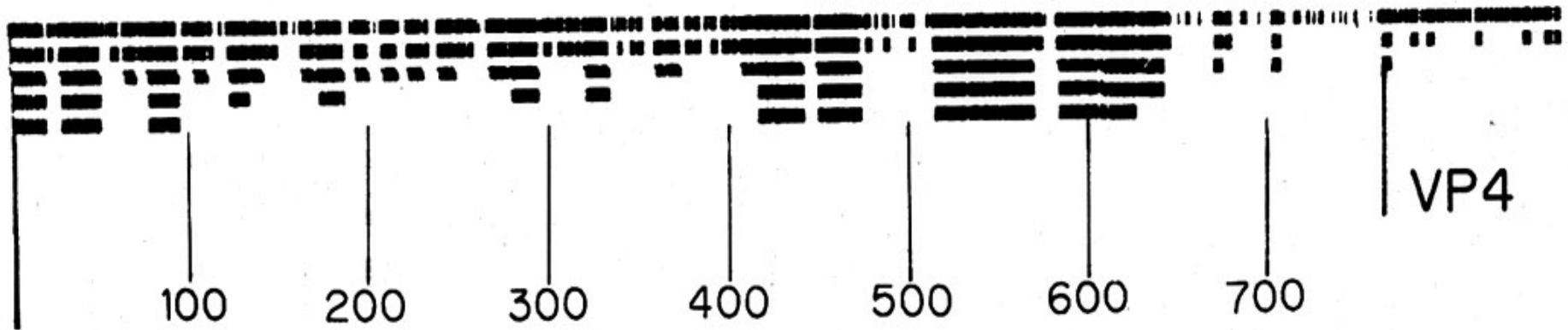


1×10^3



$1 \sim 3 \times 10^5$

5' non-coding region



†

Haruka Toyoda, Michinori Kohara, Yutaka Kataoka, Toshiyuki Suganuma, Toshiko Omata, Nobumasa Imura and Akio Nomoto, *Journal of Molecular Biology*, Vol.174, 4, pp561-585, 1984

5' non-coding region



Sabin1
cDNA

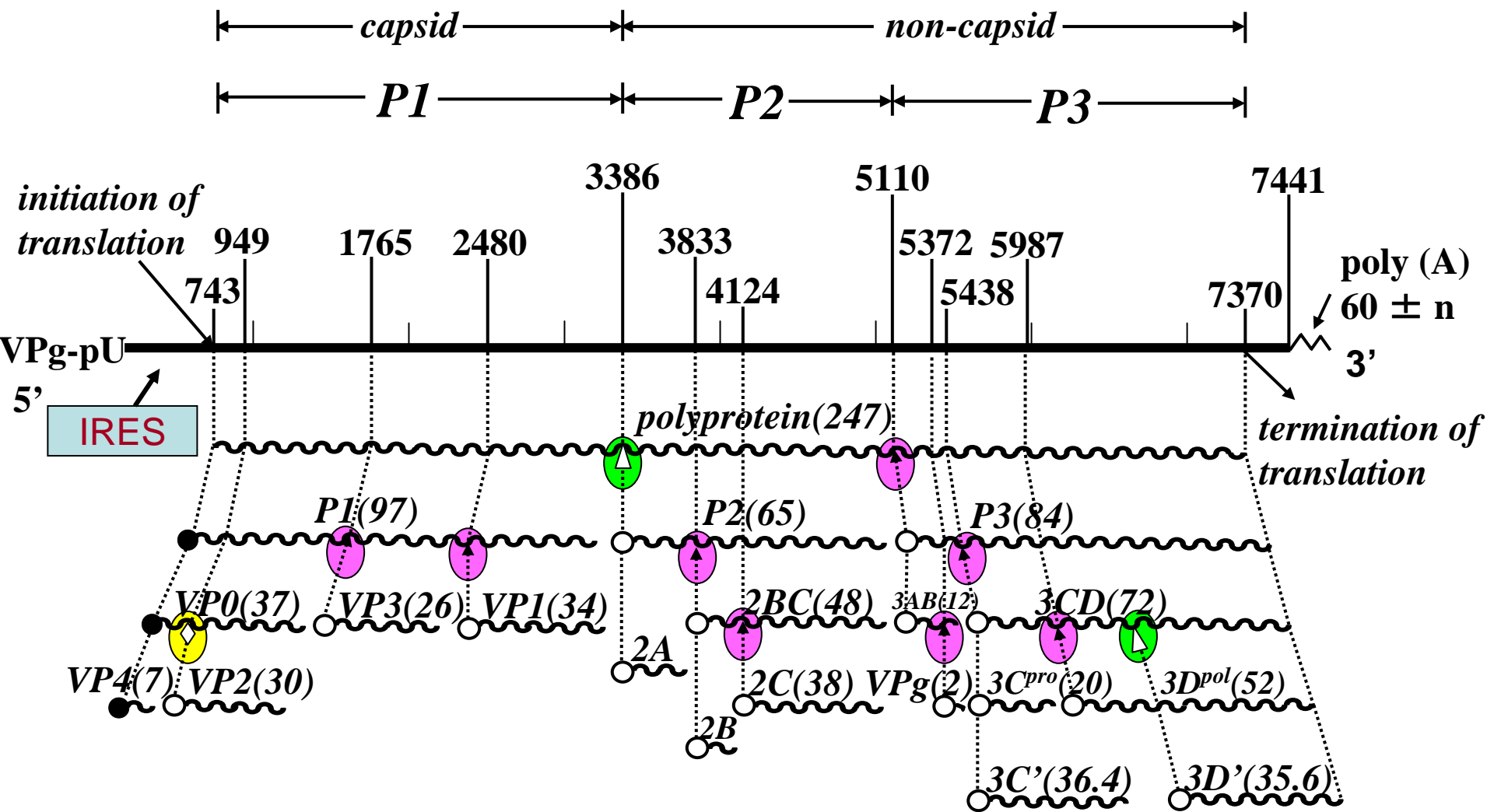
*Rsa*I
(702)

GGTCGACC

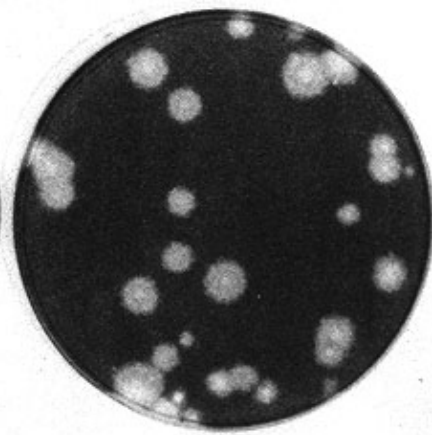
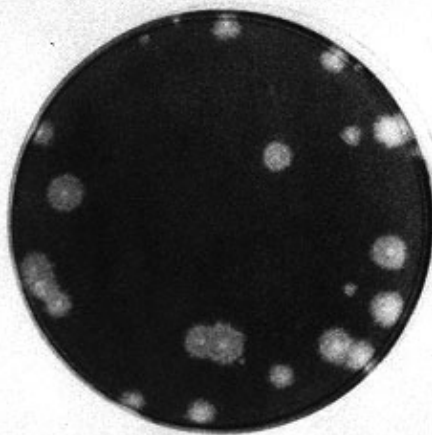
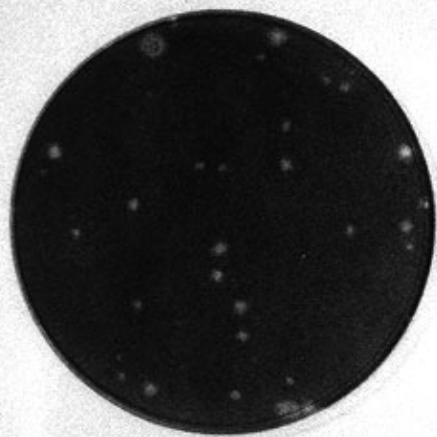
47bp
polylinker

72bp
polylinker





PL72 0 (Sabin 1)

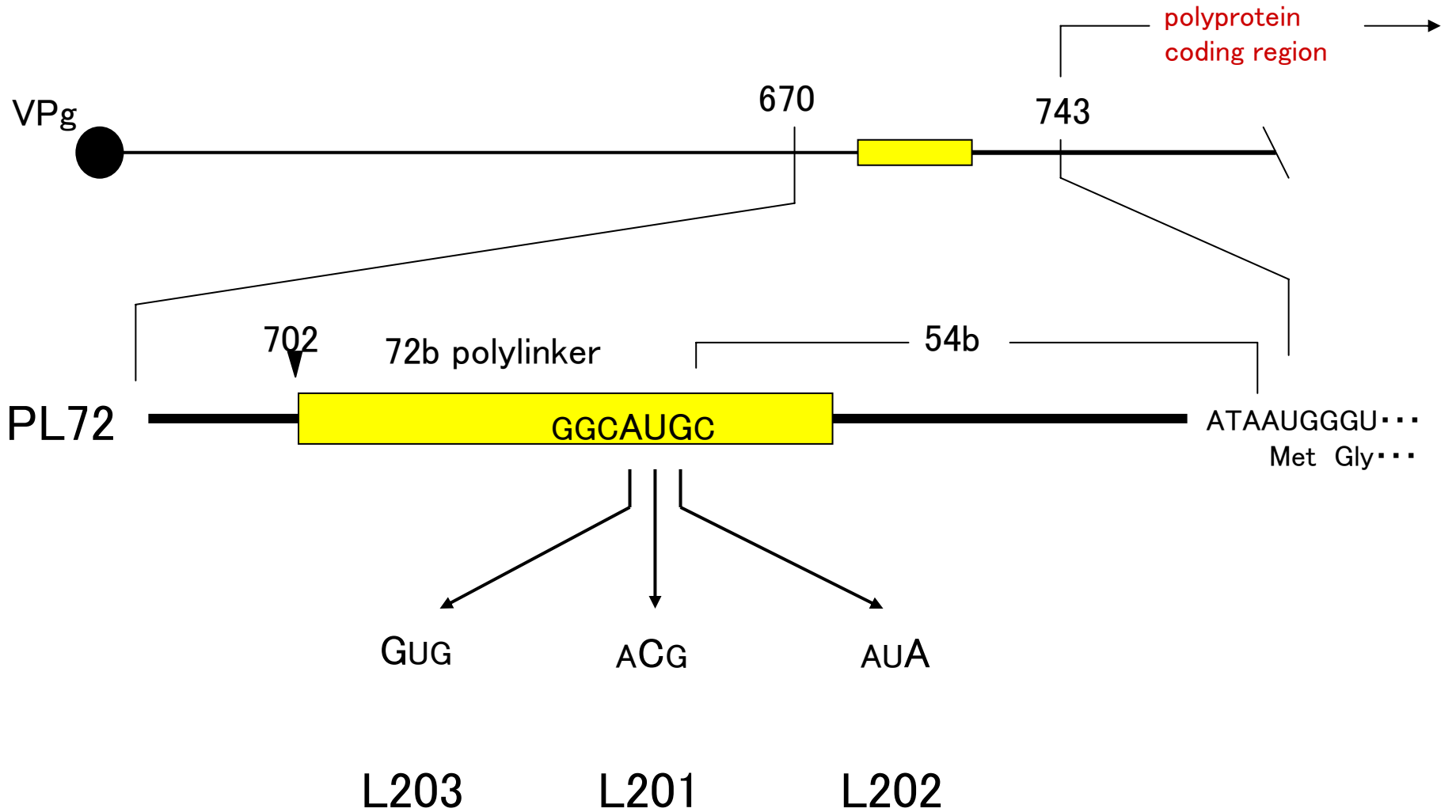


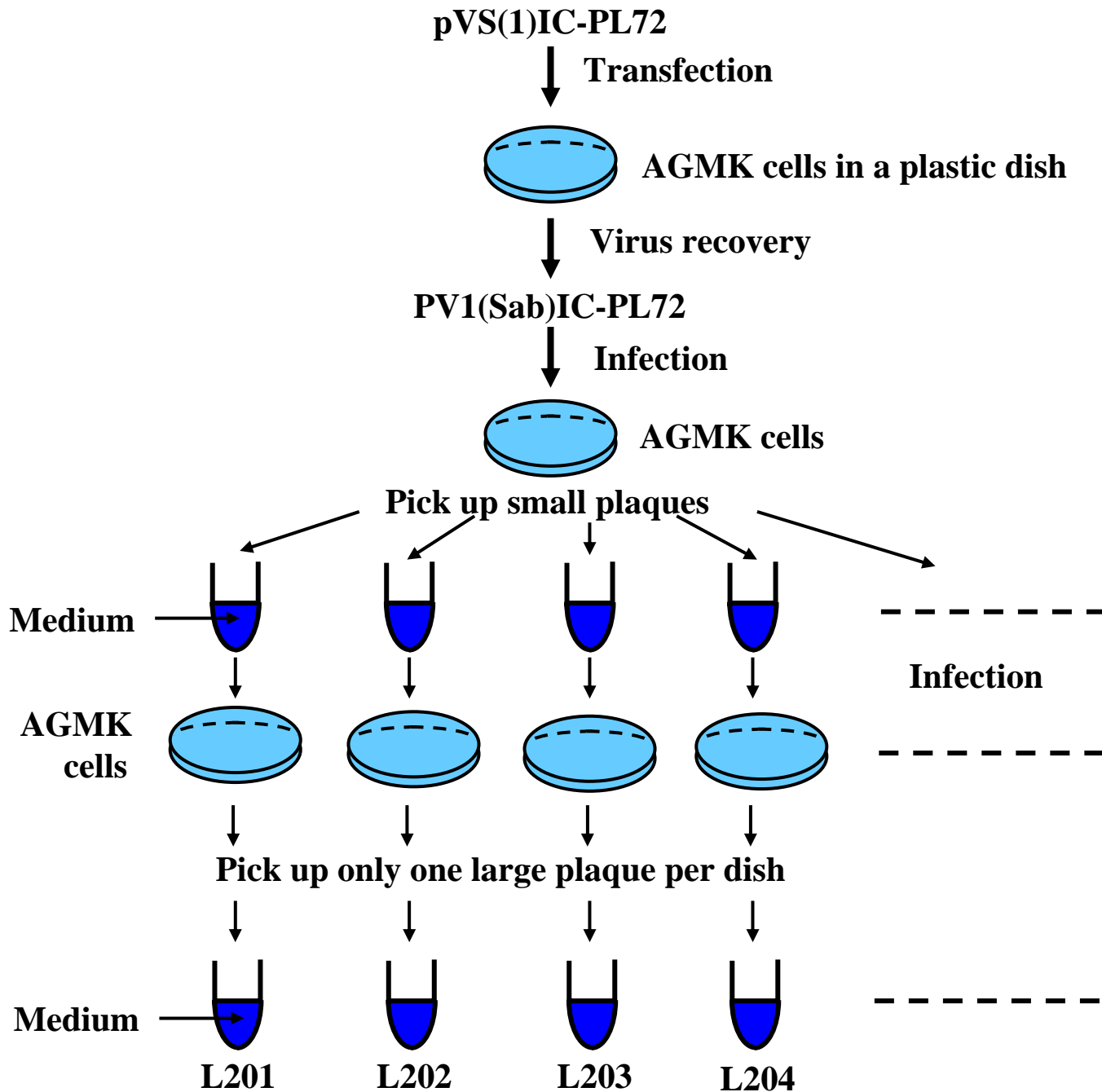
L201

L202

L203

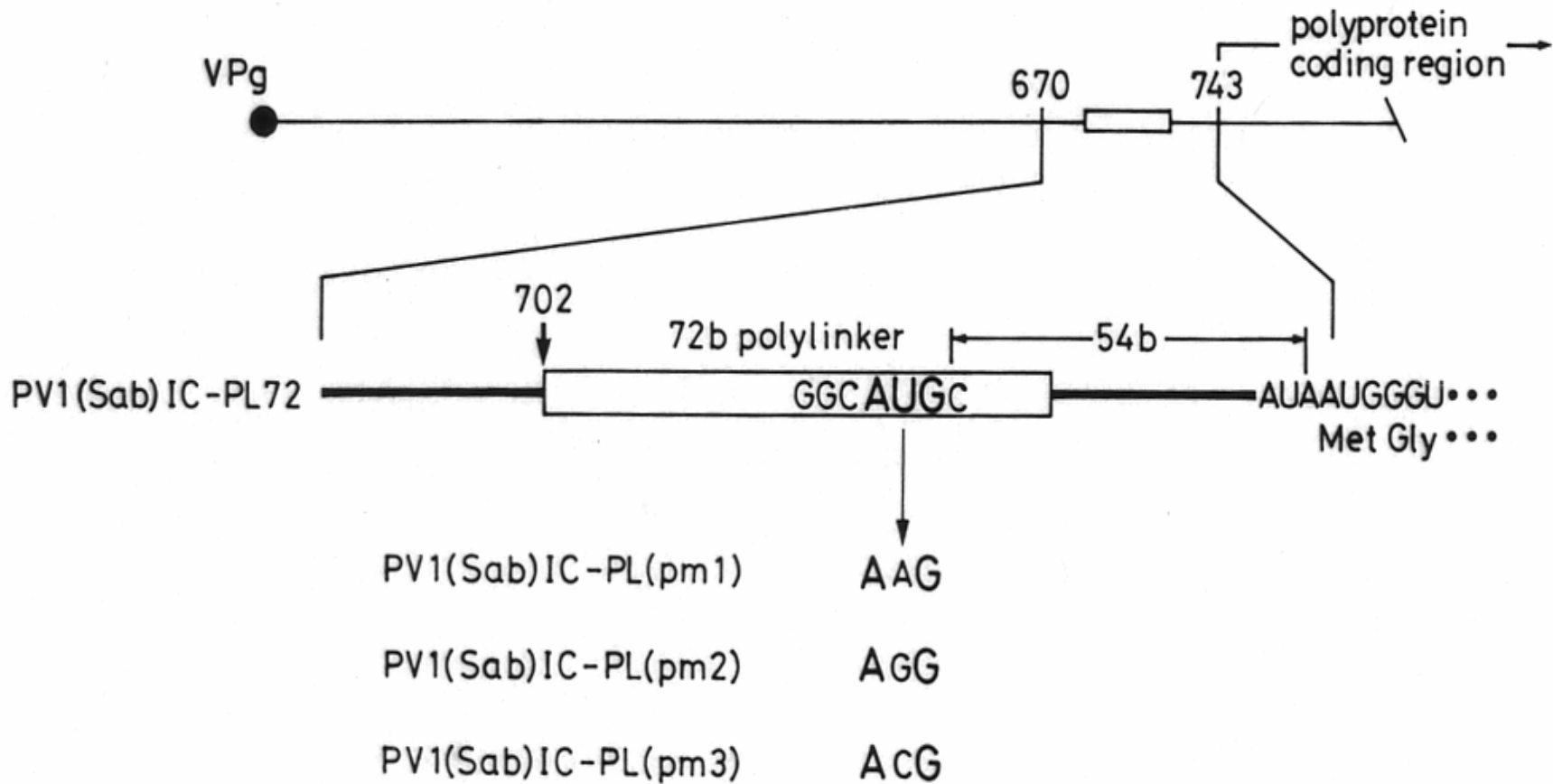




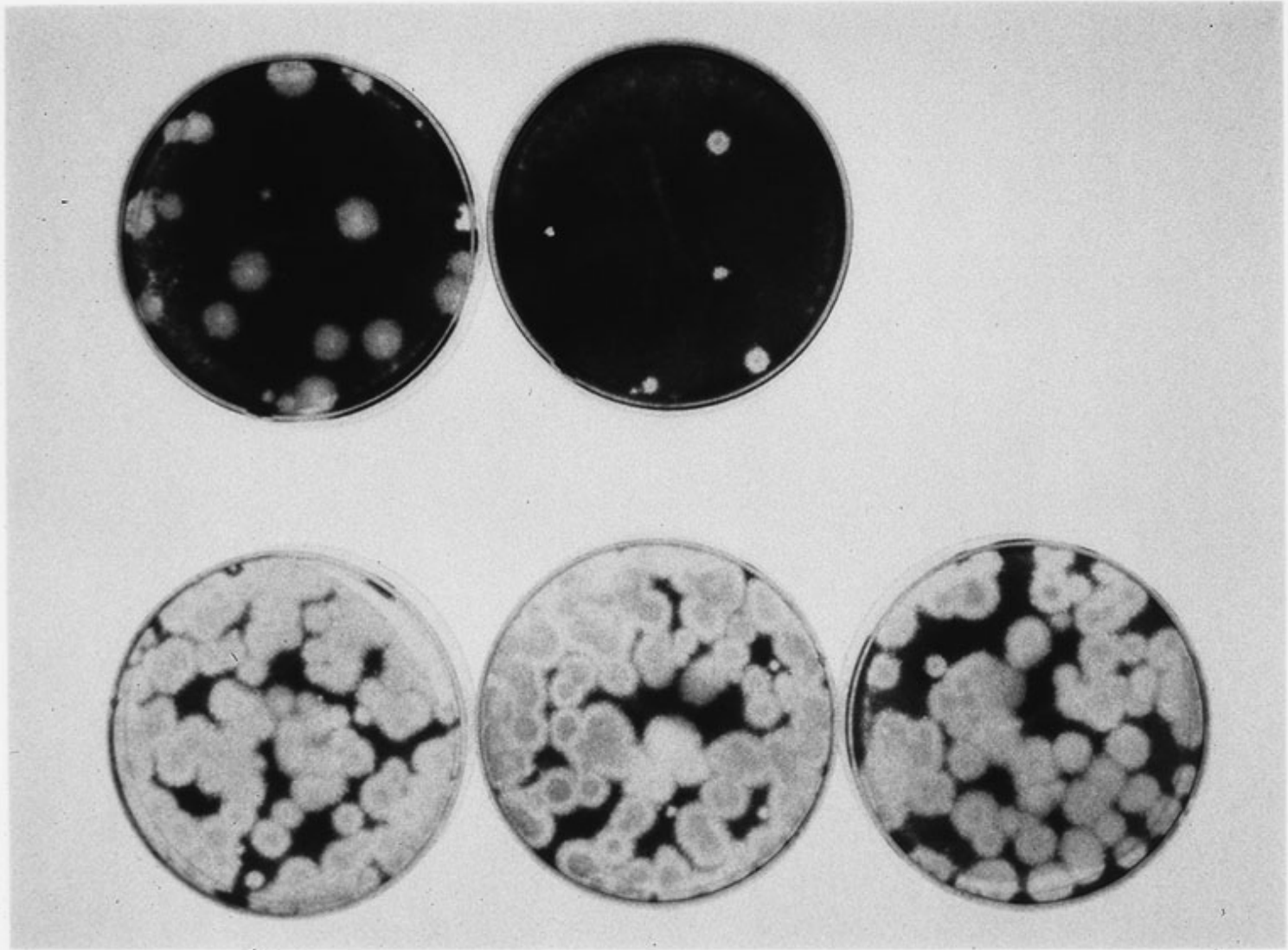


Nucleotide substitutions

Initial sequence	Altered sequence			
	G	A	U	C
A	20	—	0	0
U	0	0	—	16
G	—	7	1	0



O(Sabin 1) PL72



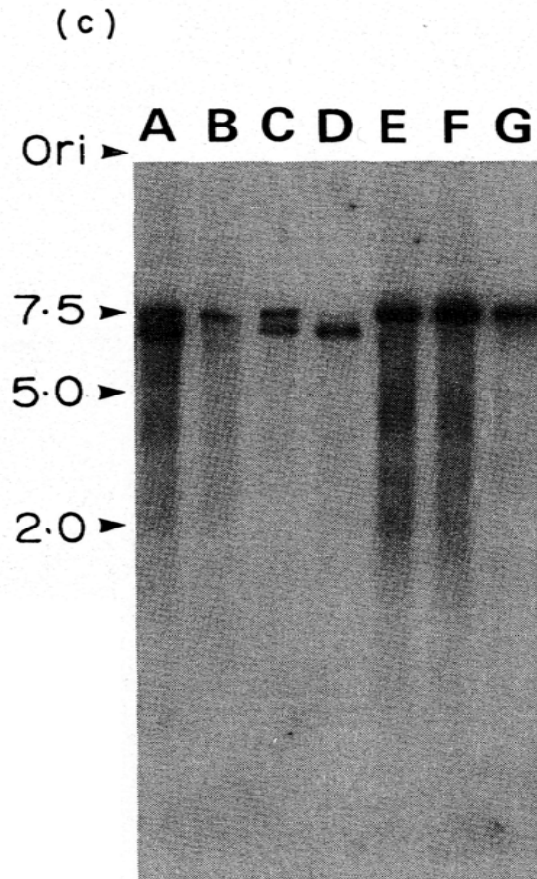
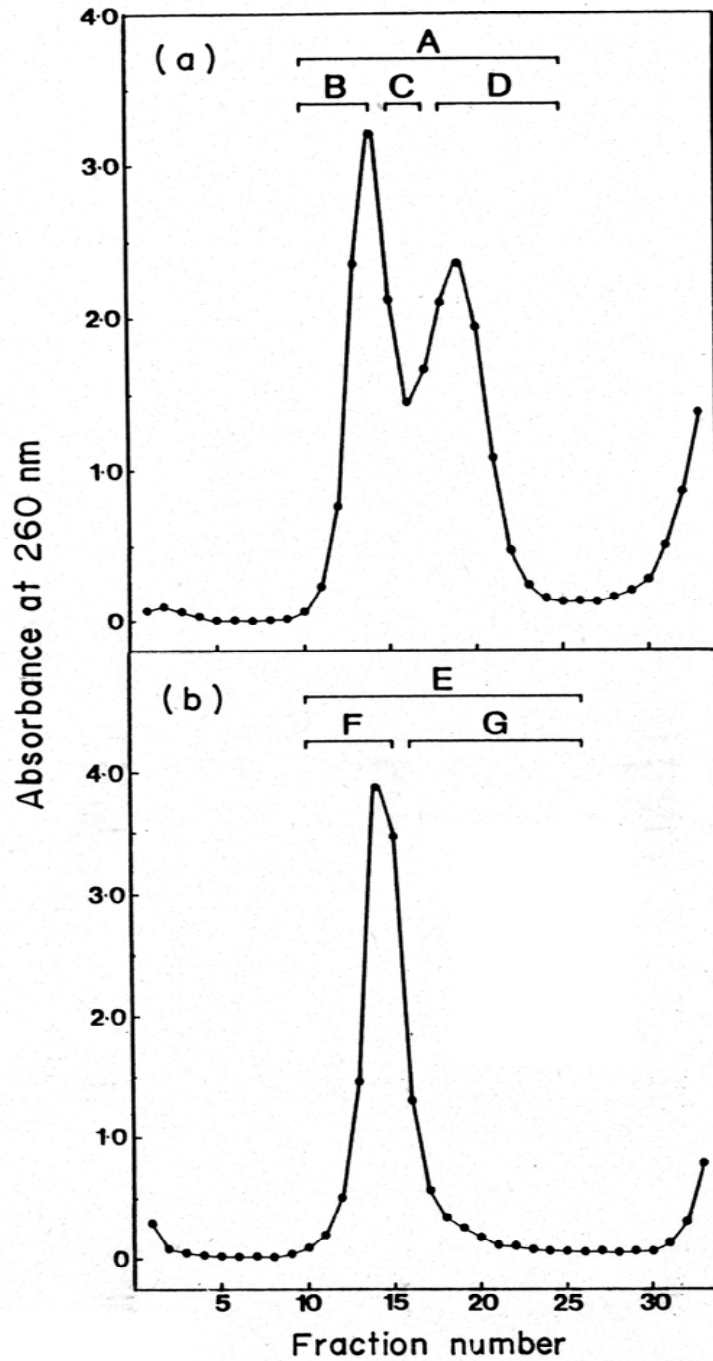
PL(pm 1) PL(pm 2) PL(pm 3)

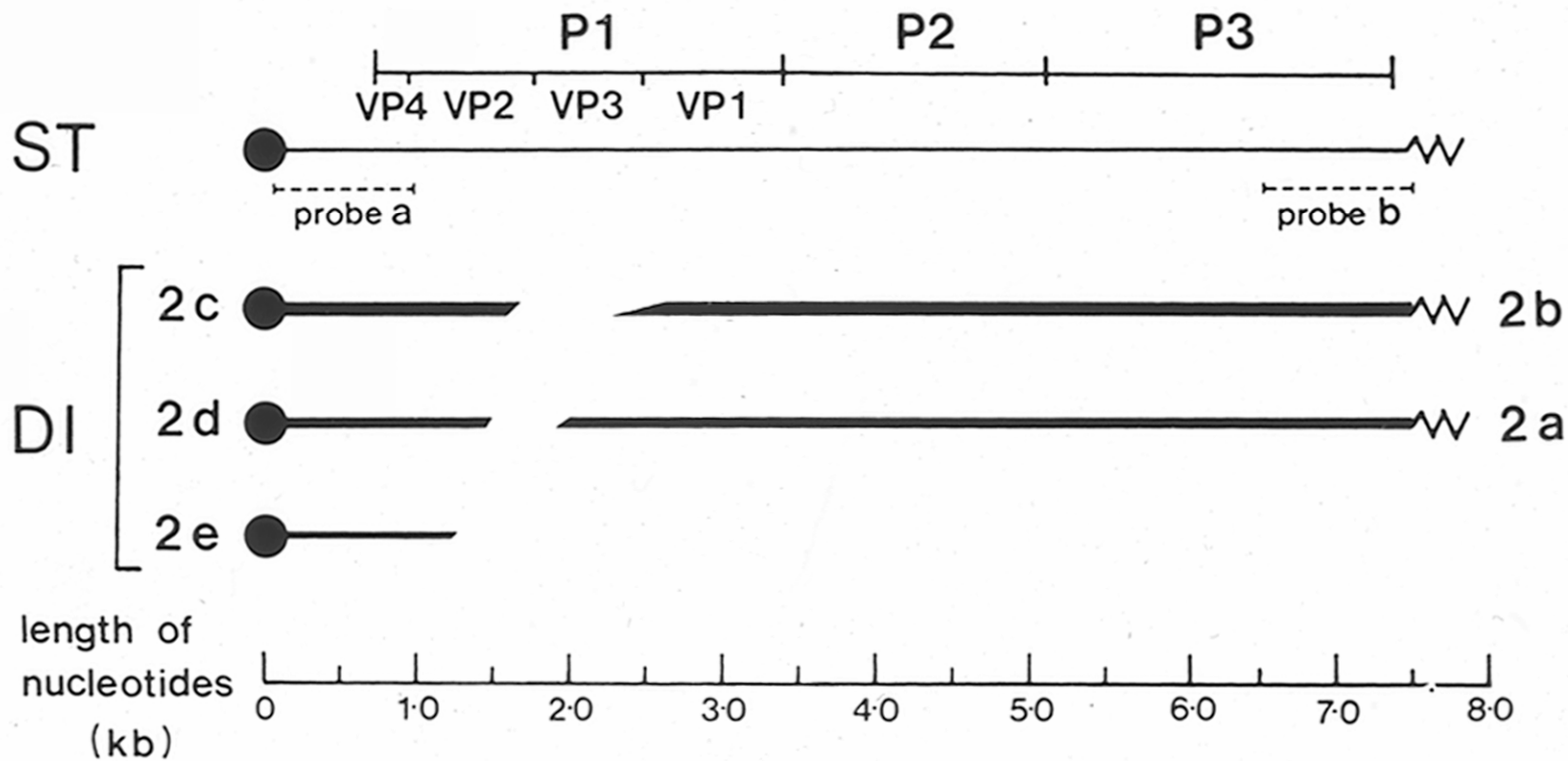
$$\text{Transversion} = 2.5 \times 10^{-6}$$

$$\frac{\text{Transition}}{\text{Transversion}} = 50$$

$$\text{Transition} = 1 \times 10^{-4}$$

Defective Interfering (DI) Particle of Poliovirus





1,2

1225 2111
 --- CCU GAU GCA CTG CGG GAC AUG GGA CUC UUU UUC ACG UUU CUG UUC UGU GGA UCC AUG AUG ---
 Pro Asp Ala Leu Arg Asp Met Gly Leu Phe Phe Thr Phe Leu Phe Cys Gly Ser Met Met

GGC CAA AAU AUG ---885 b--- GGA UCC CUG AAG
 Gly Gln Asn Met Gly Ser Leu Lys

30-1

1737 2425
 --A GCC CCU AUG UGC UGU GAG UUC AAU GGA UUU C AGC GUG CGC UUG AUG CGA GAU ACC ACA CA--
 Ala Pro Met Cys Cys Glu Phe Asn Gly Phe Ser Var Arg Leu Met Arg Asp Thr Thr

A AGA AAC AAU ACC ---687 b--- GCG UGU AAU GAC UUU
 Leu Arg Asn Ile Thr Ala Cys Asn Asp Phe

30-2

2654 2706
 -CU GGG GCC ACA AAU CGA CUA GUC CCU UCU G GC AUA GAG UCU UUC UUC GCG CGG GGU GCA U--
 Gly Ala Thr Asn Pro Leu Val Pro Ser Gly Ile Glu Ser Phe Phe Ala Arg Gly Ala

AU ACA GUG CAA ACC ---51 b--- AGG UCA GAG UCU A
 Asp Thr Val Gln Thr Arg Ser Glu Ser Ser

39

1315 2528
 --- AAC GCC UCC AAA UUC CAC CAG GGG GCA CUA ACC GUG GGG GCG GCA ACG UCU AGA GAC GCU ---
 Asn Ala Ser Lys Phe His Gln Gly Ala Leu Thr Val Gly Ala Ala Thr Ser Arg Asp Ala

GGG GUA UUC GCC ---1212b--- ACA GUC CGU GAA
 Gly Val Phe Ala Thr Val Arg Glu

209

1686 2002
 --A UUA AAU UUU GCU AGU GAG UCC UCC CCA GA C GAU CCC AUA CUC UGC CUG UCA CUC UCU CC--
 Leu Asn Phe Ala Ser Glu Ser Ser Pro Asp Asp Pro Ile Leu Cys Leu Ser Leu Ser

G AUU CCA AUC ACC ---315 b--- AAA CCA CAU ACA GA
 Glu Ile Pro Ile Thr Lys Pro His Thr Asp

25

1475 2385
 -AC CAG ACA UCA CCU GCC CGU AGG UUC UGC C AG AUG GAC AUC CUU GCU UUU GUG UCA CCG U--
 Gln Thr Ser Pro Ala Arg Arg Phe Cys Gln Met Asp Ile Leu Gly Phe Val Ser Ala

CG CUG GAU UAC CUC ---909 b--- UCG ACA CCC AGA G
 Pro Val Asp Tyr Leu Ser Thr Pro Arg Glu

16

1581 2563
 --G ACC AAC AAC UGU GCU ACA CUG GUA CUC CC A AAC ACU GAA GCC AGU GGA CCA GCA CAC UC--
 Thr Asn Asn Cys Ala Thr Leu Val Leu Pro Asn Thr Glu Ala Ser Gly Pro Ala His

U UAC GUG AAC UCC ---981 b--- AGA GAC GCU CUC CC
 Pro Tyr Val Asn Ser Arg Asp Ala Leu Pro

11

1633 2396
 --- GAU AGU AUG GUA AAG CAC AAU AAU UGG GGA CUU GGU UUU GUG UCA CCG UGU AAU GAC UUC ---
 Asp Ser Met Val Lys His Asn Asn Trp Gly Leu Gly Phe Val Ser Ala Cys Asn Asp Phe

AUU GCA AUA UUA ---762 b--- GAG AUG GAC AUC
 Ile Ala Ile Leu Glu Met Asp Ile

17

1639 2519
 --- AUG GUA AAG CAC AAU AAU UGC GGA AUU GCA GUC CGU GAA ACC GUG GGG GCG GCA ACG UCU ---
 Met Val Lys His Asn Asn Trp Gly Ile Ala Val Arg Glu Thr Val Gly Ala Ala Thr Ser

AUA UUA CCA UUG ---879 b--- AUU GAC AAC ACA
 Ile Leu Pro Leu Ile Asp Asn Thr

13, 213

1662 2479
 --A AUU GCA AUA UUA CCA UUG GCC CCA UUA AA G GGG UUA GGU CAG AUG CUU GAA AGC AUG AU--
 Ile Ala Ile Leu Pro Leu Ala Pro Leu Lys Gly Leu Gly Gln Met Leu Glu Ser Met

U UUU GCU AGU GAG ---816 b--- AAA CCG CUA GCA CA
 Asn Phe Ala Ser Glu Lys Ala Leu Ala Gln

14, 15

1664 2445
 -UU GCA AUA UUA CCA UUG GCC CCA UUA AAU U AU ACC ACA CAU AUA GAG CAA AAA GCG CUA G--
 Ala Ile Leu Pro Leu Ala Pro Leu Asn Tyr Thr Thr His Ile Glu Gln Lys Ala Leu

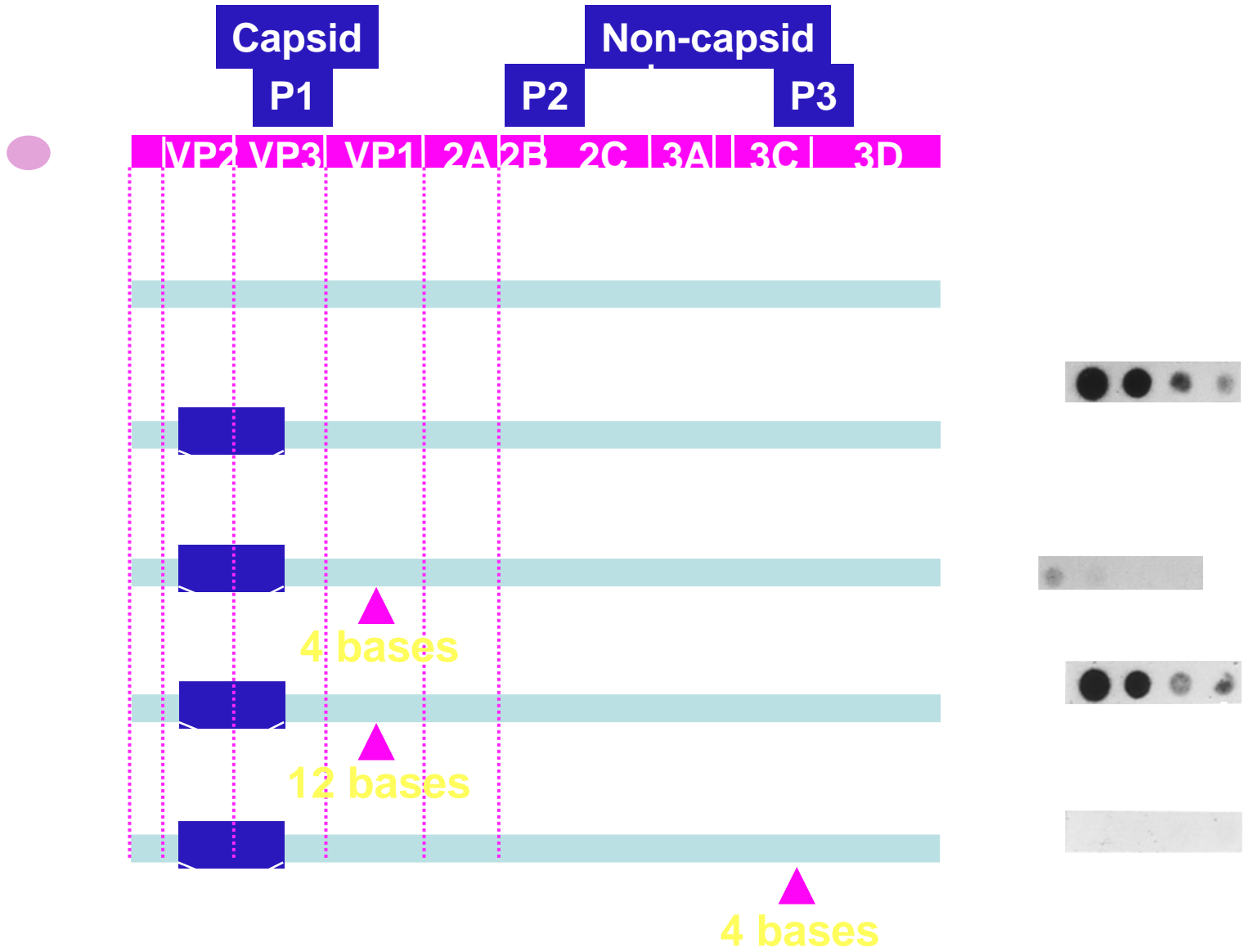
UU GCU AGU GAG UCC ---780 b--- CGC UUG AUG CGA G
 Phe Ala Ser Glu Ser Arg Leu Met Arg Asp

H

1619 2337
 -AC UCC CUC UCG AUA GAU AGU AUG GUA AAG C GC GUC UUC UAC CAA ACC AGA AUA GUC GUC C--
 Ser Leu Ser Ile Asp Ser Met Val Lys Arg Val Phe Tyr Gln Thr Arg Ile Val Val

AC AAU AAU UGG CGA ---717 b--- GGC GGA UAC AUC A
 His Asn Asn Trp Gly Gly Gly Tyr Ile Ser





1,2

1225 2111
 --- CCU GAU GCA CTG CGG GAC AUG GGA CUC UUU UUC ACG UUU CUG UUC UGU GGA UCC AUG AUG ---
 Pro Asp Ala Leu Arg Asp Met Gly Leu Phe Phe Thr Phe Leu Phe Cys Gly Ser Met Met

GGC CAA AAU AUG ---885 b--- GGA UCC CUG AAG
 Gly Gln Asn Met Gly Ser Leu Lys

30-1

1737 2425
 --A GCC CCU AUG UGC UGU GAG UUC AAU GGA UUC C AGC GUG CGC UUG AUG CGA GAU ACC ACA CA--
 Ala Pro Met Cys Cys Glu Phe Asn Gly Phe Ser Var Arg Leu Met Arg Asp Thr Thr

A AGA AAC AAU ACC ---687 b--- GCG UGU AAU GAC UUU
 Leu Arg Asn Ile Thr Ala Cys Asn Asp Phe

30-2

2654 2706
 -CU GGG GCC ACA AAU CGA CUA GUC CCU UCU G GC AUA GAG UCU UUC UUC GCG CGG GGU GCA U--
 Gly Ala Thr Asn Pro Leu Val Pro Ser Gly Ile Glu Ser Phe Phe Ala Arg Gly Ala

AU ACA GUG CAA ACC ---51 b--- AGG UCA GAG UCU A
 Asp Thr Val Gln Thr Arg Ser Glu Ser Ser

39

1315 2528
 --- AAC GCC UCC AAA UUC CAC CAG GGG GCA CUA ACC GUG GGG GCG GCA ACG UCU AGA GAC GCU ---
 Asn Ala Ser Lys Phe His Gln Gly Ala Leu Thr Val Gly Ala Ala Thr Ser Arg Asp Ala

GGG GUA UUC GCC ---1212b--- ACA GUC CGU GAA
 Gly Val Phe Ala Thr Val Arg Glu

209

1686 2002
 --A UUA AAU UUU GCU AGU GAG UCC UCC CCA GA C GAU CCC AUA CUC UGC CUG UCA CUC UCU CC--
 Leu Asn Phe Ala Ser Glu Ser Ser Pro Asp Asp Pro Ile Leu Cys Leu Ser Leu Ser

G AUU CCA AUC ACC ---315 b--- AAA CCA CAU ACA GA
 Glu Ile Pro Ile Thr Lys Pro His Thr Asp

25

1475 2385
 -AC CAG ACA UCA CCU GCC CGU AGG UUC UGC C AG AUG GAC AUC CUU GCU UUU GUG UCA CCG U--
 Gln Thr Ser Pro Ala Arg Arg Phe Cys Gln Met Asp Ile Leu Gly Phe Val Ser Ala

CG CUG GAU UAC CUC ---909 b--- UCG ACA CCC AGA G
 Pro Val Asp Tyr Leu Ser Thr Pro Arg Glu

16

1581 2563
 --G ACC AAC AAC UGU GCU ACA CUG GUA CUC CC A AAC ACU GAA GCC AGU GGA CCA GCA CAC UC--
 Thr Asn Asn Cys Ala Thr Leu Val Leu Pro Asn Thr Glu Ala Ser Gly Pro Ala His

U UAC GUG AAC UCC ---981 b--- AGA GAC GCU CUC CC
 Pro Tyr Val Asn Ser Arg Asp Ala Leu Pro

11

1633 2396
 --- GAU AGU AUG GUA AAG CAC AAU AAU UGG GGA CUU GGU UUU GUG UCA CCG UGU AAU GAC UUC ---
 Asp Ser Met Val Lys His Asn Asn Trp Gly Leu Gly Phe Val Ser Ala Cys Asn Asp Phe

AUU GCA AUA UUA ---762 b--- GAG AUG GAC AUC
 Ile Ala Ile Leu Glu Met Asp Ile

17

1639 2519
 --- AUG GUA AAG CAC AAU AAU UGC GGA AUU GCA GUC CGU GAA ACC GUG GGG GCG GCA ACG UCU ---
 Met Val Lys His Asn Asn Trp Gly Ile Ala Val Arg Glu Thr Val Gly Ala Ala Thr Ser

AUA UUA CCA UUG ---879 b--- AUU GAC AAC ACA
 Ile Leu Pro Leu Ile Asp Asn Thr

13, 213

1662 2479
 --A AUU GCA AUA UUA CCA UUG GCC CCA UUA AA G GGG UUA GGU CAG AUG CUU GAA AGC AUG AU--
 Ile Ala Ile Leu Pro Leu Ala Pro Leu Lys Gly Leu Gly Gln Met Leu Glu Ser Met

U UUU GCU AGU GAG ---816 b--- AAA CCG CUA GCA CA
 Asn Phe Ala Ser Glu Lys Ala Leu Ala Gln

14, 15

1664 2445
 -UU GCA AUA UUA CCA UUG GCC CCA UUA AAU U AU ACC ACA CAU AUA GAG CAA AAA GCG CUA G--
 Ala Ile Leu Pro Leu Ala Pro Leu Asn Tyr Thr Thr His Ile Glu Gln Lys Ala Leu

UU GCU AGU GAG UCC ---780 b--- CGC UUG AUG CGA G
 Phe Ala Ser Glu Ser Arg Leu Met Arg Asp

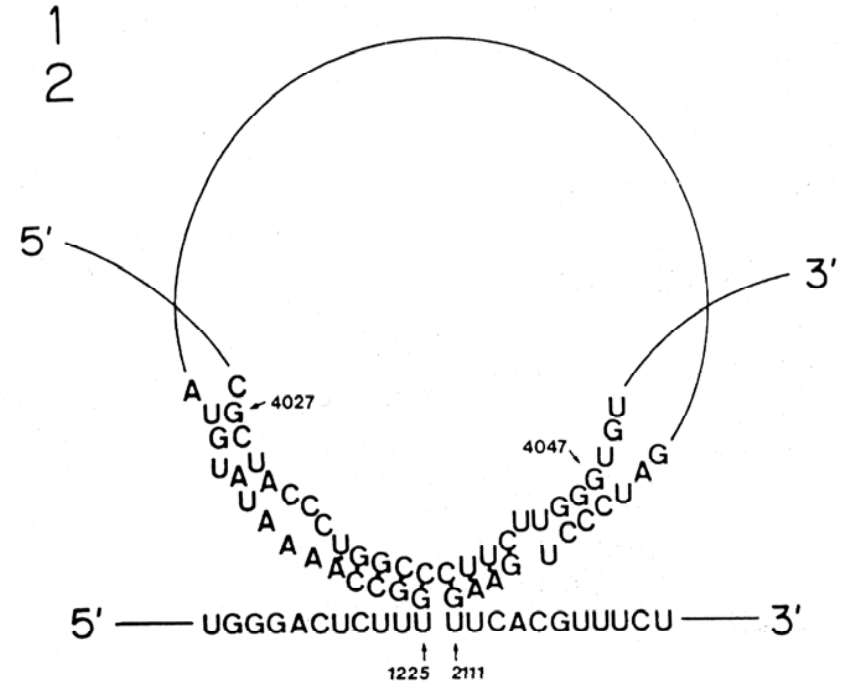
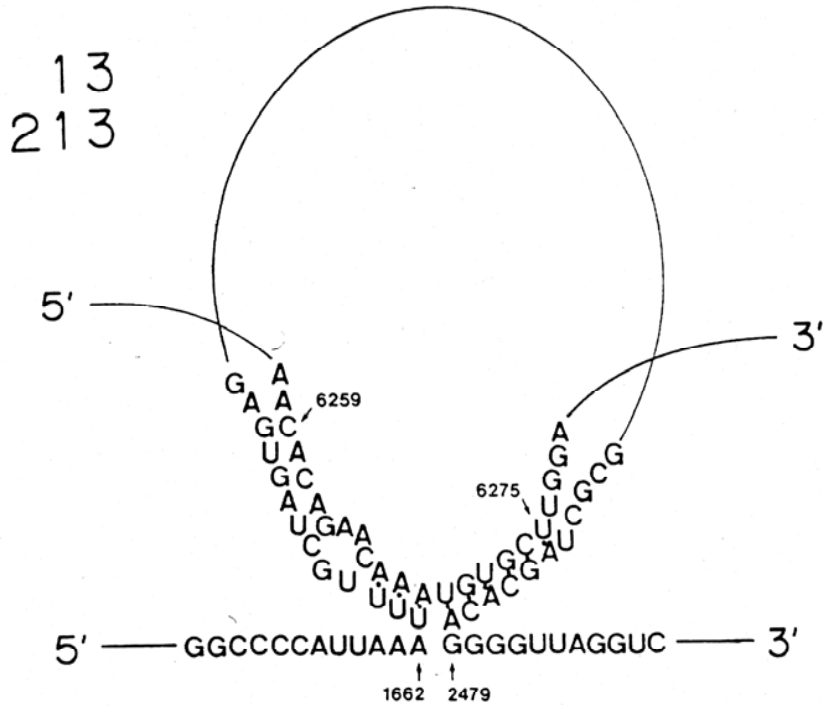
H

1619 2337
 -AC UCC CUC UCG AUA GAU AGU AUG GUA AAG C GC GUC UUC UAC CAA ACC AGA AUA GUC GUC C--
 Ser Leu Ser Ile Asp Ser Met Val Lys Arg Val Phe Tyr Gln Thr Arg Ile Val Val

AC AAU AAU UGG CGA ---717 b--- GGC GGA UAC AUC A
 His Asn Asn Trp Gly Gly Gly Tyr Ile Ser

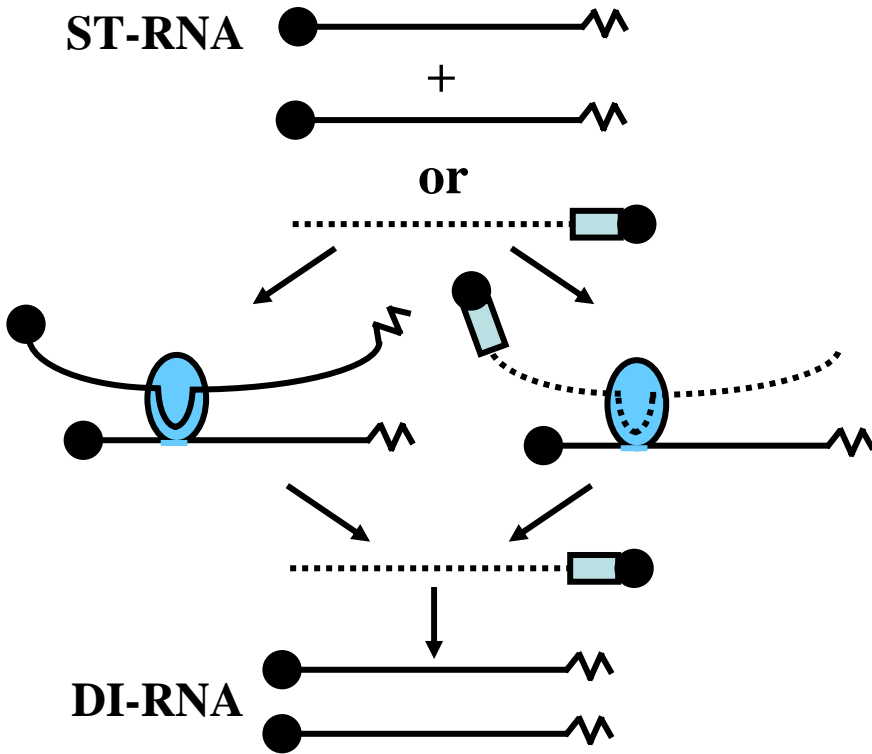


Supporting sequence-loop Model



RNA組換えモデル「supporting sequence-loopモデル」

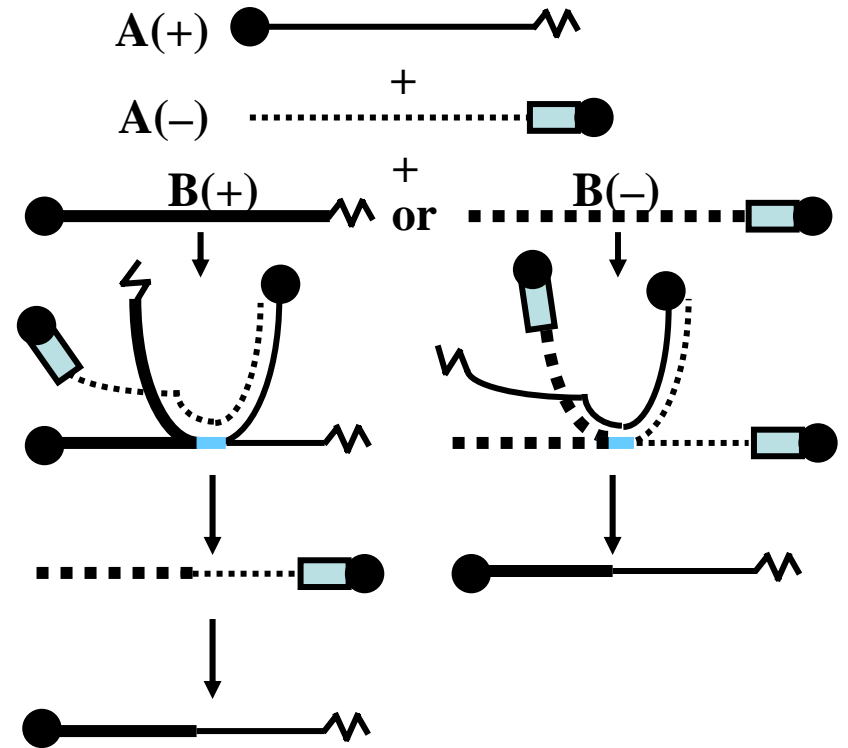
遺伝子欠損変異株の発生



ST-RNA:スタンダードウイルスのRNA
DI-RNA:遺伝子欠損株ウイルスのRNA

●:VPg ♪:ポリA □:ポリU

ウイルス株間のゲノム組換え



A(+)とA(-):A株プラス鎖とA株マイナス鎖
B(+)とB(-):B株プラス鎖とB株マイナス鎖