

一 般 演 題 抄 錄

## 1. ヒト免疫不全ウイルスコア内部構造の形態観察

高崎 智彦 倉根 一郎 相原 宏州 山口 淳二\*  
 近畿大学医学部細菌学教室 \* 近畿大学ライフサイエンス研究所

### 目 的

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の微細構造に関する模式図は数多く発表されているが、ウイルスコア内部の構造に関してはまだ超微形態学的に充分検討されていない。今回我々は、透過型電子顕微鏡超薄切片法による HIV コア内部の核蛋白を観察する方法および、HIV ウイルスコア内部の微細構造について検討した。

### 材料と方法

HIV (LAV-1 株) を Molt-4 細胞に接種し、7 日目の細胞を用いた。ペレットとした感染細胞は 2% グルタルアルデヒドおよび 1% オスミウム酸により固定し、エタノール系列で脱水後、常法によりエポキシ樹脂に包埋した。超薄切片を作製後、5% 酢酸ウラン水溶液にて 5 分間染色し、蒸留水にて洗浄後、クエン酸鉛溶液にて 2 分間電子染色を施した。これらの試料を透過型電子顕微鏡 (日立 H-7100 および H-800) により、加速電圧 100 kV の条件下で観察した。得られた電子顕微鏡写真は、コア内部をよ

り詳しく観察するために、画像をイメージスキャナーにより取り込み、画像解析ソフト (Photoshop Ver. 2.5J) を用い、レベル補正およびフィルター処理を施した。

### 結果と考察

今回の短時間低濃度電子染色法によるウイルス粒子の観察では、ウイルスエンベロープの染色性は低下したが、コア内部の核タンパクの構造物と推察される像が認められた。成熟粒子のコア内部には、三次元的にはラセン形を形成していることを示唆する像が観察された。また、出芽粒子や未熟粒子内部においても、コアを形成する素材となる構造物と推察される像を有する粒子が観察され、比較的未熟な粒子内においてもラセンをなしている構造物を認めた。以上のことから、ウイルスコアの素材は、出芽段階から粒子内に形成され始め、まず 2 本の RNA を初めとする核蛋白を形成しながら、コアが完成されていく可能性が示唆された。

## 2. J558 固有イデオタイプ特異的ヘルパー T 細胞株の樹立

正木 秀幸 堀内 篤\* 入交 清博\*\* 山口 淳二\*\*\* 倉根 一郎  
 近畿大学医学部細菌学教室 \* 同医学部第 3 内科学教室 \*\* 同薬学部 \*\*\* 同ライフサイエンス研究所

### 諸 言

BALB/c マウスの  $\alpha$  (1→3) デキストランに対する液性免疫応答は、均一な抗体の産生よりなり、また抗イデオタイプ抗体を用いた解析の結果、その H 鎖上には少なくとも交叉性イデオタイプ (IdX) とマウス骨髄腫タンパク J558 もしくは M104E のそれに代表される固有イデオタイプ (IdI) の 2 種類のイデオタイプ (Id) が存在していることが知られている。今回我々は、抗  $\alpha$  (1→3) デキストラン抗体の Id を認識する T 細胞株の樹立を試み、それらの内 J558IdI に特異的なヘルパー T 細胞株 (J-2R) を樹立したので報告する。

### 方 法

BALB/c に J558 (IgA,  $\lambda_1$ ) の Fab' を CFA と共に免疫し、そのリンパ節細胞を IL-2 共存下に J558 の H 鎖と X 線照射した同系の脾細胞で抗原刺激を繰り返すことにより、T 細胞株を樹立した。細胞株の抗原特異性は  $^3\text{H-TdR}$  の取り込みを用いた増殖反応で、また表面マーカーは flowcytometry にて解析した。IdI 関連ペプチドは、自動ペプチド合成機 (島津 PSSM-8) で合成した。

### 結 果

1) J-2R は J558 およびその H 鎖に対して増殖反応を示したが、同一アイソタイプの骨髄腫タンパクや、H 鎖可変部の 100 番目と 101 番目の二つのアミノ酸残基しか異ならない M104E の H 鎖には反応しなかった。2) 増殖反応は MHC が H-2<sup>d</sup> のマウスに由来する抗原提示細胞を用いたときのみに観察され、また抗 I-E<sup>d</sup> 抗体により完全に阻害された。3) H 鎖 CDR3 内のアミノ酸残基である 100 番目の Arg と 101 番目の Tyr により決定される J558IdI を織り込んだ合成ペプチド、とりわけ J558 の H 鎖の 88 番目から 105 番目のアミノ酸配列よりなる J88-105 に対して J-2R は著明な増殖反応を示したが、100 番目と 101 番目のアミノ酸残基を M104EIdI の Tyr と Asp に置換した M88-105 に対しては全く反応しなかった。4) J-2R は、CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup> かつ  $\alpha\beta\text{TcR}^+$  であった。

### 考 察

J-2R は、I-E<sup>d</sup> 拘束性に J558IdI を特異的に認識する CD4 ヘルパー T 細胞株であり、Id 特異的ヘルパー T 細胞の機能解析への有用性が期待される。