

## 生物資源開発科学専攻

氏名	Chaiwud Sudthongkong
学位記番号	生博 甲第 131 号
学位記授与の日付け	平成 15 年 3 月 25 日
学位論文題目	Studies on Tropical Iridovirus (Tropivirus, Family Iridoviridae) Infecting Fishes (魚類に感染する Tropical Iridovirus (Tropivirus, Iridoviridae 科)に関する研究)
論文審査委員	主査 教授・宮崎 照雄 教授・柏木 正章 教授・神原 淳 三重大学医学部 教授・白石 泰三

### 要 旨

イリドウイルスあるいはイリド様ウイルスと呼ばれるウイルスの感染症が、東南アジア諸国（シンガポール、マレーシア、タイ、インドネシア）で養殖されている観賞用熱帯魚、ハタ類およびスズキに発生することが知られている。南シナ海の中国海南島付近で稚魚を漁獲し、日本に輸入して飼育されているスズキやカンパチにも本ウイルス病が発生している。また、本ウイルス病がは 1990 年夏に日本で飼育されていたマダイ稚魚に突如発生して大量斃死を起こしたのみならず、その後、ブリやシマアジなどの主要養殖魚類にも発生して、大きな被害を及ぼし続けている。

本研究では、イリドウイルス病のマダイ（日本産）、スズキ（南シナ海産）、茶色マダラハタ（タイ産）、ドワーフグラミー（マレーシア産）およびアフリカンランプアイ（インドネシア産）を採取し、病魚の病理組織学的検討と電子顕微鏡観察をおこなった。また、それぞれの魚種から分離した病原イリドウイルスを培養し、ウイルスの Adenosin Triphosphate Phosphohydrolase (ATPase) と外皮タンパク (Major capsid protein: MCP) をコードする遺伝子の解析を行い、相同性を検討した。

その結果、異なった地域から採取したそれぞれの病魚では、いずれも、病理組織学的にウイルス感染細胞が封入体形成細胞を形成していた。封入体形成細胞はその形態から、初期、成熟期、風船化変性期に分類され、脾臓、消化管、造血組織などに顕著に出現していた。電子顕微鏡観察における封入体形成細胞は宿主細胞内に特徴的な

封入体を形成しており、その封入体内でイリドウイルス粒子が顕著に増殖していた。イリドウイルス粒子は六角形を呈し、電子密度の高いコアとカプシッドをもち、直径 140–200nm の大きさであった。

上記 5 種の病魚から分離培養されたイリドウイルス株について、ウイルスの ATPase をコードする DNA を解析するために 5 組のプライマーセット、および MCP をコードする DNA を解析するために 3 組のプライマーセットを設計した。定法に従って DNA 解析を行い、得られた DNA シークエンスから演繹されたアミノ酸配列を決定した。その結果、5 種のイリドウイルス株は、ATPase 遺伝子 (720bp) では 98.1% 以上、ATPase アミノ酸配列 (239 個) では 94.9% 以上の相同性を示した。また、5 種のイリドウイルス株は、MCP 遺伝子 (1362Bp) では 94.9% 以上、MCP アミノ酸配列

(454 個) では 97.2% 以上の相同性を示した。これらの解析結果から、異なった地域の異なった魚種から分離したこれら 5 種のイリドウイルス株は同一と判断された。また、本イリドウイルスが熱帯地域の魚類から主に分離されたことから、トロピカルイリドウイルスと呼称することとした。

トロピカルイリドウイルスはイリドウイルス科に属することから分類位置を検討した。イリドウイルス科には Lymphocystivirus, Ranavirus および Iridovirus 属があり、それぞれの属の代表株における既知の ATPase と MCP のアミノ酸配列について比較検討を行った。その結果、トロピカルイリドウイルス株の ATPase と MCP

のアミノ酸配列は低い相同性 (<45%) しか示さなかった。また、系統樹を作成して検討した結果、トロピカルイリドウイルス株は既知のいずれの属にも属さないこと

が明らかとなった。これらの結果に基づき、本イリドウイルスに新属名として Tropivirus を提唱した。

## 生物資源開発科学専攻

氏名	狩野 幹人
学位記番号	生博 甲第 132 号
学位記授与の日付け	平成 15 年 3 月 25 日
学位論文題目	水溶液系における糖類の赤外分光解析
論文審査委員	主査 教授・亀岡 孝治 教授・堀部 和雄 教授・伊藤 信孝 助教授・橋本 篤

### 要 旨

生体内および食品中における糖類の機能、状態には、周囲の水との相互作用が大きく関わりと考えられ、糖分子と水との相互作用の把握、さらにオリゴ糖、多糖類等の高速かつ高精度の定量分析方法の確立は、食品、医薬品をはじめ生物学など多くの分野で望まれている。生体内における糖代謝過程の速度論的解析、生体内および食品中における糖の機能の解析、定量には、複数成分を同時に非破壊かつリアルタイムで連続計測できるセンシング手法が望まれ、その一つに赤外分光法 (FT-IR/ATR 法) が挙げられる。本論文では、単糖類、二糖類およびオリゴ糖といった重合度の小さい糖に着目し、FT-IR/ATR 法を用いて、糖類の赤外分光特性に関わる糖分子の構造、糖分子と水との相互作用を把握することを目的とした。

#### 1. 単糖類の赤外分光特性

二糖類、オリゴ糖、さらには多糖類を構成する単糖類に着目し、濃度変化、溶媒種が赤外分光特性に及ぼす影響の把握を行った。生体内および食品中に多く存在するグルコース、マンノース、ガラクトース、およびフルクトースを採用し、 $H_2O$  および  $D_2O$  の 2 つの系において、糖濃度を飽和溶液濃度付近まで変化させ、様々な濃度のスペクトルを取得した。濃度変化に対するスペクトルの波数シフト (振動数のシフト) において、グルコースは、溶媒である  $H_2O$  との相互作用がほぼ一定である糖であることが示唆され、理想溶液と同様の挙動を示すグルコース  $H_2O$  溶液の特徴がスペクトルからも認められた。ま

た、 $D_2O$  溶液中のグルコースにおいても、 $H_2O$  溶液中と同様の傾向が見られ、グルコースは溶媒種や濃度変化といった周囲の影響を受けにくい糖であることが示された。一方で、マンノースおよびフルクトースは、特定の官能基において、 $H_2O$  溶液中および  $D_2O$  溶液中で特異的な挙動をとることが示された。

#### 2. 二糖類の赤外分光特性

単糖類の結合を有し、また、最も単純なオリゴ糖としても位置付けられる二糖類に着目し、濃度変化、溶媒種が赤外分光特性に及ぼす影響について、単糖類と比較して解析を行った。D-グルコース 2 分子が結合し、その結合形態が異なる二糖類の  $H_2O$  溶液スペクトルでは、吸収ピークはグルコースとほぼ同じ波数に存在し、結合の影響はスペクトルの吸光度に現れることが示された。また、 $\alpha$ -1,1 結合のトレハロースには、他の二糖類と比較して特徴的なスペクトルパターンが認められた。トレハロースは、水に代わって生物の生体機能を維持する働きをするとされており、その特異的な性質がスペクトルに現れたと考えられた。

つぎに、トレハロース、マルトース、スクロース、およびマルツロースについて、飽和溶液濃度付近までの様々な濃度の  $H_2O$  溶液中および  $D_2O$  溶液中のスペクトルを取得した。トレハロース、マルトースのグルコース残基中の各官能基は、波数シフトにおいてグルコースと同様の傾向を示した。特に、トレハロースはグリコシド結合においても、 $H_2O$  溶液中および  $D_2O$  溶液中で差が認められず、溶媒種、濃度変化の影響を受けにくい糖である