パラミキソウイルスの成熟機構

吉田哲也, 永井美之, 松本利貞

名古屋大学医学部

(昭和58年2月22日: 受付)

はじめに

ウイルス成熟機構に関する研究は、個々のウイルスがどのようにして形成されるかという各論的意義をもつのみならず、細胞内で合成された生体高分子がいかにしてより高次の生理活性をもった構造物にまで組織化されるかという生物学の基本的な課題と関連している。タバコモザイクウイルスの形態形成の研究にみられるように、ウイルスは最も単純な生物学的構造物である故にこの分野の研究で先駆的役割を果たしてきた¹⁾。パラミキソウイルスの成熟機構の研究はこれに比べてかなり遅れており、最近10年余りの研究を通じてようやくそのアウトラインが明らかになってきたところである。このグループのウイルスはらせん状のヌクレオキャプシッドとそれを包むエンベロープからなり、細胞内で合成されたウイルス素材が細胞膜へ輸送され、ここで組み立てられて最終的には出芽 (budding) によってウイルス粒子が完成する。このように本ウイルスの成熟過程はいくつかのステップからなっており、これらの過程は、ウイルス素材が合成の場から細胞膜へどのような経路をへて輸送されるのか、それはどのような機構によるものか、さらに細胞膜上に集ったウイルス素材がどのようにしてより高次の構造に組み立てられるのか、といった問題を含んでいる。これはとりもなおさず生体膜の構造と機能、その形態形成という重要な課題と密接に関連しており、この点でもウイルスはその構造の単純さ、及びラジオアイソトープの使用によるその過程の追跡のしやすさなどから、この分野の研究のひとつのモデルとなるであろう。本稿では以上のような点についてパラミキソウイルスの中でも比較的良好に研究されている HVJ (センドイウイルス)、NDV、SV5 の研究を中心にまとめてみたい。なお筆者の一人は同じ課題について最近総説²⁾を発表しており、それとの

一部の重複は避けられないことをお許し願いたい。しかし、できるだけ焦点をパラミキソウイルスの成熟機構に絞って新たな論点をも加えて考察してみたい。

ウイルス粒子の構造及び各構成成分の物理化学的性状

パラミキソウイルスの構造についてはすでにいくつかの総説があり²⁾⁻⁸⁾、詳しくはそれらを参照願いたい。ここではこのウイルスの成熟機構を考える上で必要と思われるウイルスの構造について簡単に述べたい。

パラミキソウイルスはその形や大きさの点で多様性 (pleomorphism) を示すのが特徴であるが、大部分は直径 150~200nm の球状の粒子である。ウイルス粒子は脂質二重層 (lipid bilayer) からなるエンベロープ (envelope) を有しその表面に長さ 8~12nm の糖蛋白 (GP) のスパイク (spikes) が多数存在する。これらのスパイクは粒子上では形態学的に区別はつかないが、血球凝集活性 (hemagglutinating activity, HA) とニューラミニダーゼ活性 (neuraminidase activity, NA) をもった HN(HANA)⁹⁾⁻¹¹⁾ と、細胞融合能 (cell fusion activity) 及び溶血能 (hemolytic activity) をもった F¹²⁾⁻¹⁵⁾ の二種類のスパイクがある。これらのウイルス糖蛋白の構造及び生物活性、ウイルス病原性における役割についてはすでに精力的な研究がおこなわれており、いくつかの総説^{2)-7), 16)-18)} があるのでそれらを参照願いたい。ウイルスエンベロープの内側に接して M 蛋白 (membrane, matrix or maturation protein) と呼ばれる糖を含まない蛋白が存在する。ウイルスエンベロープは遺伝子 RNA と多数のサブユニット蛋白 NP からなるヌクレオキャプシッド (nucleocapsid, RNP) を包んでいる。RNP はらせん状の棒状構造物で、折りたたまれてエンベロープに包まれている。RNP に結合して RNA 依存 RNA 合成酵素活性を有すると考えられる P 及び L 蛋白が存在する¹⁹⁾。以上のウイルス粒子の構造を図 1 に、またウイルス構成蛋白と生物活性の関係を表 1 に示した。

Assembly of paramyxoviruses. Tetsuya Yoshida, Yoshiyuki Nagai, and Toshisada Matsumoto. Nagoya University, School of Medicine.

〒466 名古屋市昭和区鶴舞町 65

図 1 パラミキソウイルス粒子の模式図. Choppin and Compans³⁾ による図を改変.
NP は RNA と結合してヌクレオキャプシッド(RNP)を形成している. L 及び
P は RNP と結合して存在するがその部位は不明であるので図示していない.

表 1 パラミキソウイルスの構成蛋白^{2),14),19),112)}

略号 ^{a)}	分 子 量	糖鎖の存在	機 能
L	>150,000	—	RNA依存RNAポリメラーゼ
P	75,000—79,000 ^{b)}	—	RNA依存RNAポリメラーゼ
HN ₀	82,000	+	HNのプリカーサー ^{c)}
HN(HANA) ^{d)}	65,000—74,000	+	血球凝集素：細胞のレセプターに吸着 ニューラミダーゼ：レセプターからの遊離
F ₀	65,000—68,000	+	Fのプリカーサー ^{e)}
F(F1-ss-F2) ^{f)}	65,000—68,000	+	細胞融合, 溶血能, 侵入過程に関与
NP	56,000—60,000	—	RNAとともにヌクレオキャプシッドを形成
F1	47,000—56,000	+	Fのサブユニット
M	34,000—40,000	—	ウイルスアセンブリーに関与
F2	10,000—16,000	+	Fのサブユニット

a) Scheid and Choppin¹⁴⁾による。

b) NDV の場合57,000³⁵⁾, SV5 の場合は46,000¹¹³⁾である。

c) NDV のある種の株にのみ存在する¹¹²⁾ 蛋白分解酵素による限定分解により分子量 8,000 の断片を失い活性型のHNを生ずる。

d) 本間ら¹¹⁾により提唱された略号。

e) 蛋白分解酵素による限定分解により活性型のFとなる¹²⁾¹⁴⁾

f) F1とF2がジスルフィド結合により連結してFを形成している。

1. ヌクレオキャプシッド

パラミキソウイルスの遺伝子は、沈降係数 50S²⁰⁾, M.W. 4.8×10^6 dalton²¹⁾ の一本鎖 RNA である。この RNA は NP と結合して幅 18~20nm, ピッチ 5~6nm, 長さ 1μ の左巻らせん構造の RNP を形成している²²⁾⁻²⁵⁾。パラミキソウイルスの遺伝子は mRNA 活性をもたない⊖極性の RNA であるが^{26), 27)}, 粒子内には約 30% の割合で⊕極性の 50S RNA (antigenome) を含んだ RNP が存在する²⁸⁾。この RNP は細胞内で合成される⊖ 50S RNA の鋳型 RNA からなる RNP であると考えられ、このことは RNP のウイルス粒子へのとりこみは RNA の極性で決まるのではなく、NP によって決まることを示唆している。このようにならかなり高率に粒子にとりこまれた antigenome がウイルス増殖過程において何らかの役割を果しているのか、それとも成熟過程における単なる間違いにすぎないのか興味ある問題である。さらにパラミキソウイルスの欠損干渉粒子 (defective interfering particle, DI particle) は、internal deletion によって RNA の大部分を欠損し 5' 端のみからなる、または 3' 端と 5' 端のみからなる RNA を RNP の形で有する^{29), 30)}。このこともまた RNP のウイルス粒子へのとりこみには RNA は重要でなく NP が主要な役割を果していることを示唆している。粒子内には一本だけでなく数本の RNP が存在することがしばしばあり³¹⁾, これがパラミキソウイルスのサイズの多様性を決める原因と考えられる。また HVJ はこれらのウイルス RNA だけでなく、しばしばリボゾーム RNA を含むという報告もある²⁸⁾。このように RNP のウイルス粒子へのとりこみは、後述するような高度に制御された側面とルーズな側面を有する。

直径 150~200nm のウイルス粒子に 1μ の RNP が包みこまれるには RNP は折りたたまれなければならない、そのためには可塑性 (flexibility) が必要である。Heggens は最近 HVJ, VSV³²⁾ 及びインフルエンザウイルス³³⁾ の RNP の構造が環境の塩濃度で変化することを報告した。HVJ の RNP のらせん構造は 10mM リン酸緩衝液 (pH 7.2) 中ではほどけた状態となり、塩濃度を上げるにしたがってらせん構造は密になり 400mM NaCl 以上では棒状の密な (ピッチ 5.6nm) らせん構造をとる。等張 (150mM NaCl) の塩濃度ではらせん構造はそれよりややゆるく弾力性に富んだ状態になる。これは RNP が折りたたまれて粒子にくみこまれるのに適した状態であると考えられる。RNP の塩濃度による可塑性がアセンブリーの際の RNP の折りたたみに実際に役立っているかどうかは細胞内の微小環境における塩濃度を知る必要が

あるし、また M 蛋白のような他の因子も考慮する必要がある。事実、HVJ の RNP は M と複合体を形成した時弾力性を増すという観察もある³⁴⁾。インフルエンザウイルスの場合、HVJ や VSV とは逆に塩濃度を増すとらせん構造はほどけてくる。

RNP と RNA 合成酵素と考えられる L, P との結合の性質、部位については殆どわかっていない。最近浜口ら³⁵⁾ は NDV の RNP とそれぞれ精製した L 及び P から転写活性複合体の試験管内再構成に成功した。このことは RNP と L, P の複合体が分子集合によって容易に再構成できることを示しているが、複合体の実体についての解析は今後に残されている。

2. ウイルスエンベロープ

a) 脂質二重層

パラミキソウイルスは細胞膜で出芽によりエンベロープを獲得する。その際細胞膜の脂質はそのまま利用されるのであろうか、それとも特定の脂質が選択的にエンベロープにとりこまれるのであろうか。Blough ら³⁶⁾ はニワトリ受精卵で増えた HVJ, NDV のエンベロープの脂質を比較し、主に脂肪酸組成に相違をみつけ、ウイルス蛋白がある種の脂質を選択してエンベロープの脂質組成を決定すると考えた。これに対し Klenk ら³⁷⁾⁻³⁹⁾ は 4 種類の細胞の細胞膜とそれぞれの細胞で増えた SV5 のエンベロープ脂質組成を比較した一連の成績により、エンベロープの脂質組成はそれぞれの宿主の細胞膜の脂質組成と非常によく似ていること、また細胞の種類による細胞膜脂質組成の相違は、それぞれの宿主で増えたウイルスのエンベロープ脂質組成の差によく反映されていること、唯一の例外としてウイルスエンベロープはそのニューラミニダーゼの作用によりシアル酸をもった糖脂質を含まないことを明らかにした。このことは、特定の少量の脂質がエンベロープに選択的にとりこまれる可能性は残されているにしてもエンベロープの脂質組成は主として宿主細胞によって決定されることを示している。

ウイルスエンベロープの脂質二重層は他の生体膜と同様に流動性を有していることが ESR (electron spin resonance) を利用して明らかにされた^{40), 41)}。しかしウイルス膜の脂質の流動性は宿主の細胞膜のそれよりも低く、これは蛋白分解酵素でスパイクを除いても変わらない⁴⁰⁾。このことはエンベロープの脂質の流動性はウイルス糖蛋白以外の膜蛋白、おそらく M によって制限されているということを示唆している。しかしこれが分解を免れてエンベロープに残されたスパイクの尾部によるものであるという可能性を全く否定はできない。

b) スパイク

パラミキソウイルスは二種類のスパイクを有し、それぞれHNまたはFポリペプチドがジスルフィド結合によりホモダイマー（またはテトラマー）を形成してスパイクをつくっている^{42), 43)}。これらの蛋白はガラクトース、マンノース、グルコサミン、フコースを含む糖蛋白で⁴⁴⁾、HVJの場合Fは4本の複合型の糖鎖を、HNは2本の複合型と2本の高マンノース型の糖鎖を担っていると考えられる⁴⁵⁾。アスパラギン結合型糖鎖の合成阻害剤 tunicamycin 存在下でHVJを増殖させると糖をもたないHN(M.W. 63,000), F(M.W. 55,000)が合成され、それぞれ分子量が約5,000, 8,000 づつ小さくなる⁴⁶⁾。またこれらのスパイク蛋白の glycosylation は宿主細胞の酵素系によっておこなわれる⁷⁾。

スパイクは Triton X-100, NP40, Tween 20 などの非イオン性界面活性剤で容易に可溶化、分離できる。HNスパイクとFスパイクの分離精製は蔗糖密度勾配遠心¹³⁾、フェルチン-アガロースを使用したアフィニティーカラムクロマト⁴⁷⁾、等電点電気泳動¹⁵⁾などによっておこなわれた。これらのスパイクは両端にノブをもつ長さ約20 nm の亜鈴状の形をしており、溶媒から界面活性剤を除くと一方のノブを中心として放射状に凝集するので、このノブは疎水性でありこの部分がエンベロープ脂質二重層に埋まっていると考えられる¹⁵⁾。ウイルスエンベロープを界面活性剤で可溶化して得たスパイクと脂質の混合物から透析、ゲル濾過などで界面活性剤を除くと、脂質の膜の両側にスパイクが多数並んだ構造物ができる⁴⁸⁾⁻⁵¹⁾。この再構成膜は血球凝集能、溶血能、細胞融合能等のウイルスエンベロープの性質をもっており、エンベロープが分子集合でできることを示している。しかし実際のウイルスエンベロープは外側にのみスパイクを有して非対称的であるのに対し、この再構成エンベロープは両側にスパイクを持っている。

初期の仕事において前野ら⁵²⁾、Chenら⁵³⁾はHVJ, SV5粒子から蛋白分解酵素処理によりスパイクをはずし、血球凝集活性、ニューラミニダーゼ活性、溶血能がスパイクに存在することを明らかにした。Chenらはスパイクをはずしたウイルス粒子中にスパイクの残存断片がみつからないことからスパイクはそれ程深く脂質二重層に入っていないと考えた。しかしその後の研究でウイルス糖蛋白とM蛋白は脂質二重層を介して相互作用を及ぼしていることが明らかになった。永井ら⁵⁴⁾はNDV感染細胞からウイルス糖蛋白は存在するがMを殆んど含まない滑面膜を分離し、これを非感染細胞に外側から吸着させるとウイルス糖蛋白は速やかに細胞膜上に移行、拡散するが、ウイルス粒子を吸着させた場合その移行は制限

されていること、さらにNDV感染細胞の分画実験⁵⁵⁾において、Mは細胞膜のウイルス糖蛋白のすでに存在している部分にのみ結合することを明らかにした。また吉田ら⁵⁶⁾はM欠損のHVJ ts 変異株 (HVJ cl. 151) を利用してMが細胞膜に結合していないと細胞膜上のウイルス糖蛋白は非常に移動性に富み、この移動性はMの結合により制限されることを示した。Tyrrellら⁵⁷⁾は麻疹ウイルス感染細胞を抗ウイルス糖蛋白血清で処理してウイルス糖蛋白をキャップ形成させると、それに伴って細胞膜内側のM, RNPもキャップを形成することを示した。以上の報告から、パラミキソウイルスの糖蛋白は脂質二重層を介して内部のMさらにはRNPと相互に連絡しあっていることは明らかである。しかしこの連絡が蛋白相互の直接的なものであるのか、それとも脂質を介して間接的におこなわれているのかはこれらの報告からでは不明である。換言すれば、ウイルス糖蛋白が脂質二重層を貫通しているかどうかである。最近パラミキソウイルスの糖蛋白は脂質二重層を貫通しているいわゆる内在性膜蛋白 (integral membrane protein) であるという報告がいくつか提出された。Lyles⁵⁸⁾はHVJとヒト赤血球を融合させることによりウイルス糖蛋白を赤血球膜にとりこませ、これから‘うらがえし’ (inside-out) 赤血球膜の vesicle を調製した。これを種々の蛋白分解酵素で処理するとRNP, Mは完全に消化され、同時にHN, Fもそれぞれ分子量2,000, 3,000 づつ小さくなることを見出した。また中村ら⁵⁹⁾はHVJ感染細胞よりミクロゾーム画分を調製し、これを蛋白分解酵素により処理した結果HN, Fはこれに抵抗性であるが、分子量がやや小さくなることを示した。これらの結果はHN, F糖蛋白は脂質二重層を貫通して細胞質面にアミノ酸20~30残基を露出してMと直接結合できることを示唆している。実際NDVを分子架橋剤DTBP (dimethyl-3,3'-dithiobispropionimidate, 架橋距離1.1nm)を用いてウイルス粒子構成蛋白分子間の空間的接近度を調べるとM蛋白、糖蛋白、NPの複合体が形成された⁶⁰⁾。

ウイルス糖蛋白は感染細胞内において蛋白分解酵素による限定分解、糖鎖の付加以外に硫酸化、脂肪酸の付加などのさまざまな修飾 (posttranslational modification) を受ける。これらの意味については後で述べる。

c) M蛋白

パラミキソウイルスは、インフルエンザウイルスやVSVと同様に分子量34,000~40,000の非糖蛋白を有する。この蛋白はエンベロープの内側に接して存在すると考えられ、M蛋白 (membrane protein) と呼ばれている。Mのウイルス粒子内での存在部位はまずインフルエンザ

表 2 パラミキソ (SV5), ミキソ (A/NWS) ウイルスのM蛋白のアミノ酸組成 (mole %)

Amino acid	Hydrophilicity value ^a	SV5 ^b	NWS ^c	
		M	M	NP
Arginine	3.0	4.8	6.4	9.7
Aspartic acid	3.0	7.8	7.3	10.0
Glutamic acid	3.0	11.0	12.9	11.9
Lysine	3.0	6.8	5.4	4.6
Serine	0.3	7.6	6.6	8.4
Asparagine	0.2	—	—	—
Glutamine	0.2	—	—	—
Glycine	0.0	9.9	7.6	7.6
Proline	0.0	6.5	3.4	4.4
Threonine	-0.4	7.1	7.1	5.9
Alanine	-0.5	5.0	10.3	7.6
Histidine	-0.5	2.0	1.9	1.6
Cysteine	-1.0	2.0	—	—
Methionine	-1.3	2.1	4.2	3.0
Valine	-1.5	7.3	7.2	5.6
Isoleucine	-1.8	5.7	4.4	6.2
Leucine	-1.8	8.1	10.5	7.1
Tyrosine	-2.3	2.6	1.8	2.6
Phenylalanine	-2.5	3.8	2.8	3.8
Tryptophan	-3.4	—	—	—

a) Hopp and Woods¹¹⁴⁾による。b) McSharry ら⁶⁴⁾による。c) Erikson and Kilbourne⁶⁶⁾による。比較のために NP のアミノ酸組成も引用した。

ウイルスの研究から明らかになった。インフルエンザウイルス粒子や感染細胞を電顕で観察するとエンベロープや出芽の部分の細胞膜の脂質二重層の内側にもう一層の電子密度の高い層 (basic membrane) が存在する⁶¹⁾。また固定したウイルス粒子から脂質を抽出すると RNP を包む蛋白の殻をもった粒子が得られた⁶²⁾。この殻は basic membrane と一致するもので M 蛋白からなっている。パラミキソウイルスについては、粒子内に多量に存在する NP 以外の非糖蛋白をインフルエンザウイルスとのアナロジーから M 蛋白と呼ぶようになったが、インフルエンザウイルスのような basic membrane は見られずその存在部位については必ずしも明確でなかった。このために matrix protein とも呼ばれる。しかし SV5⁵³⁾や HVJ 粒子³⁴⁾を蛋白分解酵素で処理しスパイクを除いても M は影響を受けないこと、HVJ 粒子の分画実験において多量の M がエンベロープに結合していること^{34), 63)} などから、大部分の M はエンベロープの内側に結合していると考えられる。またこの蛋白は後で述べるようにウイルスの成熟過程において重要な役割を果たすことから最近松本²⁾に

よって maturation protein と呼ぶことが提唱された。いずれにしても M 蛋白という呼称はこれらの全ての意味を含むことができるという点において適切な略称であると思われる。

SV5, NDV, HVJ などのパラミキソウイルスの M 蛋白は非イオン性界面活性剤存在下でも不溶性であるが、高塩濃度 (1M KCl 又は NaCl) の条件下で Triton X-100 などの界面活性剤により可溶化でき^{9), 13)}、この性質を利用して大量に精製できる。さらに塩化セシウム平衡遠心⁶⁴⁾、イオン交換セルロースカラムクロマト³⁵⁾を組合せることにより高純度の M を得ることができる。インフルエンザウイルスの M はこの方法では分離、精製できず、酸性クロロホルムメタノールなどによって抽出可能である⁶⁵⁾。HVJ の M もこの方法により抽出可能である⁶³⁾。このように同じ M 蛋白でもウイルスによりその性質は異なるがいずれにしてもパラミキソウイルス、ミキソウイルスの M は疎水性の強い蛋白である。表 2 に SV5⁶⁴⁾、インフルエンザウイルス⁶⁶⁾の M 蛋白のアミノ酸組成を示す。SV5 の場合 hydrophilicity value が 0 以下のアミノ

酸は 62.1%, NWS は 61.2% で, NWS の NP の場合は 55.4% である. パラミキソウイルスの M 蛋白の一次構造は不明であるが, インフルエンザウイルス⁶⁸⁾, VSV⁶⁷⁾ では核酸の配列決定によりその一次構造が明らかにされている. しかしながらこの一次構造と M 蛋白の機能との対応は今のところ困難であり, さらに三次構造などの説明が必要とされている. ただ VSV の M 蛋白の場合, その N 末端の 19 個のアミノ酸残基のうち 8 個が塩基性のリジン残基で占められ, しかもこれらのアミノ酸残基のみが 19 個のアミノ酸残基の中で荷電性である. この塩基性ドメインによって VSV の M 蛋白は転写の制御^{69), 70)}を行っている可能性がある. このようなドメインはインフルエンザウイルスの M 蛋白には見出されない. このように同じ M 蛋白でもウイルスによってその物理化学的性質が異っており, その機能にかなりの違いが存在するかも知れない.

成熟機構

パラミキソウイルスの成熟は, ①ウイルス蛋白の合成の場合からアセンブリーの場合である細胞膜への輸送, ②細胞膜上のウイルスエンベロープ前駆体の形成及びそれへの RNP の結合(狭義のアセンブリー), ③出芽, の各ステップからなる.

1. ウイルス蛋白の細胞内輸送

パラミキソウイルス粒子素材の細胞内輸送のアウトラインは, まず永井ら⁵⁵⁾による NDV 感染細胞の分画実験によって明らかにされた. NDV 感染細胞をリボゾーム, 粗面小胞体 (RER), 滑面小胞体及びゴルジ膜 (SER), 細胞膜に分画し, これらの細胞内構造物とウイルス蛋白の結合及びその移動をラジオアイソトープを用いたパルスチェイス実験で調べた結果, ウイルス糖蛋白 (HN, F) は常に RER, SER, 細胞膜などの膜系に結合して存在し, 細胞質に遊離の形では存在しないこと, これらの糖蛋白は RER で合成され, ついで SER を経由して細胞膜に現われ, 最後にウイルス粒子にとりこまれることを示した. その後この糖蛋白の細胞内合成, 移動の経路は HVJ でも同じであることが確かめられ⁷¹⁾, パラミキソウイルスの糖蛋白の細胞内輸送は VSV やインフルエンザウイルスと本質的に同じであると考えられる. また NDV 感染細胞の蛋白合成をシクロヘキシミドで止めてもその後約 1 時間にわたって細胞表面の血球吸着能 (HAD) は増加するが, ヨード酢酸と窒化ナトリウムで解糖系及び酸化的リン酸化を阻害すると HAD の増加は直ちに止るので⁷²⁾, ウイルス糖蛋白の輸送の過程は新たな蛋白合成を必要としないが, エネルギー代謝に依存し

ていると考えられる.

NDV 感染細胞を短時間パルスラベルした後, 可溶性画分と不溶性画分に分けると約 25% (HVJ の場合 20%) の NP が可溶性画分に存在する. 60 分チェイス後には NP は細胞膜と RER に存在するようになるが, SER には現われない. これは常に膜と結合して存在するウイルス糖蛋白と対照的であり, このことは NP が遊離型のポリゾームで合成され直接的に細胞膜に到達することを示唆している. 最近浜口ら³⁵⁾は NDV 感染細胞中のかなりの量の RNP が細胞骨格系に結合して存在するらしいと報告したが, 可溶性画分に NP が割合少いのはこのことによる可能性が考えられる.

M 蛋白の合成部位, 輸送経路に関してはまだ不明の点が多い. NDV 感染細胞を短時間パルスラベルして M の細胞内分布をみると, M はウイルス糖蛋白がすでに存在する部分の細胞膜及びウイルス粒子中に常に存在しており, 糖蛋白の存在しない細胞膜には見出されなかった. このことから M は細胞膜近くで合成され, 速やかにかつ直接的に細胞膜へついで粒子中にとりこまれると考えられ, この過程はウイルスエンベロープ前駆体形成の最終ステップであると推定される. また M 蛋白の細胞内合成量は粒子中の他の蛋白に対する M の量に比べてかなり少いので, 上記のこととあわせて M はインフルエンザウイルスの場合⁷³⁾と同様にウイルス粒子形成における律速因子となることが推定された.

2. ウイルス糖蛋白の修飾と細胞内輸送

パラミキソウイルス蛋白の細胞内輸送のアウトラインを述べたが, 糖蛋白の輸送をとってもその過程はかなり複雑な内容を含んでいる. ウイルス糖蛋白は RER で合成され直ちに RER 内腔に挿入される^{59), 74)}. その後 SER, そしておそらくはゴルジ装置 (パラミキソウイルスの場合まだ直接的証拠はない) を経由して細胞膜へ至る. この間にウイルス糖蛋白は蛋白分解酵素による限定分解 (proteolytic cleavage), 糖鎖の付加 (glycosylation), 硫酸化 (sulfation), 脂肪酸の付加 (fatty acid acylation) などのさまざまな修飾 (posttranslational modification) を受ける. さらにウイルス糖蛋白の輸送には極性 (polarity) があって, 例えばインフルエンザウイルス, HVJ, SV5 の場合 MDCK のような上皮性細胞において細胞上面 (apical) の細胞膜へ, また VSV は細胞下面 (basolateral) の細胞膜へ輸送され出芽する⁷⁵⁾⁻⁷⁷⁾. このようなウイルス糖蛋白の細胞内輸送に伴うさまざまな現象は次のような問題を提起する. 第 1 に, RER で合成されたウイルス糖蛋白はどのようにして疎水性の脂質二重層のバリアーを通過するのであろうか. HN, F はどうして

RERの内腔へ挿入され、NP、MはRERの中へ入らないのか。第2に、RERから細胞膜までのウイルス糖蛋白の輸送の過程はどのようになっているのか。一つの均質な過程であるのか、それとも質的に異なったいくつかの過程であるのか。第3に、ウイルス糖蛋白輸送の極性はどのようにして決定されるのか。第4に、これらの問題とウイルス糖蛋白のさまざまな修飾はどのような関連があるのであろうか。そこで、以上の問題について現在明らかな点と不明な点を整理してみよう。

パラミキソウイルス糖蛋白の蛋白分解酵素による限定分解には2種類あると考えられている。一つは $F_0 \rightarrow F$ ($F_1 + F_2$) および $HN_0 \rightarrow HN$ (NDVのある種の株の場合) で表わされる限定分解で、これにより不活性型糖蛋白 HN_0 、 F_0 は活性化され、それぞれ血球凝集能、細胞融合能を示すようになりウイルス感染及びウイルス病原性に重要な役割を果すことは余りにも有名である。これについては永井らが本誌において別に詳しく述べる予定である。しかしこの型の限定分解はその有無にかかわらずウイルス糖蛋白が粒子にとりこまれるので糖蛋白の輸送には関係ないと考えられる。もう一つの型は、信号配列 sequence) の限定分解による切断で、ウイルス糖蛋白の (signalRER 脂質二重層通過に重要な役割を果す。パラミキソウイルスではまだ明らかにされていないが、いくつかの分泌蛋白⁷⁸⁾や VSV 等^{79), 80)}のウイルスにおいてその存在が示されており、ウイルス糖蛋白の RER における存在様式の類似性からその存在はパラミキソウイルスにおいても間違いないと考えられる。これらの糖蛋白はその N 末端に 15~30 個のアミノ酸残基からなる疎水性配列 (信号配列) が存在し、これがポリペプチド鎖の RER 膜への挿入に働きその直後に RER の内腔に存在する蛋白分解酵素により除去される。NP、M にはおそらくこの配列が存在せず RER 内腔に入らないために糖蛋白とは違った輸送経路をとると思われる。このようにウイルス糖蛋白は信号配列に先導されて RER 膜を通過し C 末端又はそれに近い部分を膜内にとどめる。そしてこれらの糖蛋白は細胞膜に出現する時、細胞内膜が inside-out することにより細胞膜の外側に配列すると考えられる。このように細胞の膜系によって形成されたコンパートメントを経由することが、エンベロープ上でのスパイク存在のトポロジーを決定すると考えられる。前述のように再構成エンベロープにおいてスパイクが対称的配列を示すのは、この細胞内膜によるコンパートメントが関与しないためであろう。

ウイルス糖蛋白への糖鎖の付加及びその役割については VSV、インフルエンザウイルスなどについて詳細に検討されており、詳しくはそれぞれの総説⁸¹⁾⁻⁸³⁾にゆず

るとして、最近中村ら⁴⁶⁾は HVJ 糖蛋白の合成、輸送に関する研究で興味ある事実を報告した。糖鎖合成阻害剤 tunicamycin 存在下で HVJ を感染させ細胞分画実験でウイルス蛋白の合成、移動を調べると、糖鎖のない HN、F が合成され、これらの蛋白は正常に RER に結合し、ついで SER に移動する。ところがこれらの蛋白の SER から細胞膜への輸送はおこらずウイルス粒子の形成はみられなかった。糖鎖が付加されないことにより HN、F の立体構造が変化し、このことが SER から細胞膜への移動がおこらなかった原因であろう。糖鎖がつかないと常にこのようなことがおきるというわけではなく、インフルエンザウイルスの場合には HA_0 (unglycosylated HA) は正常に細胞膜に輸送される⁸⁴⁾。ただし産生された粒子上にはスパイクは存在しない。これは糖鎖がないと蛋白分解酵素による分解を受けやすいからであろう。糖鎖が存在するか否かでウイルスの糖蛋白の輸送が変化するのはこのようにウイルスによって異なり、VSV では株によって違うという報告⁸⁵⁾もあるので、これはウイルス糖蛋白の構造によって決定されるものと考えられる。いずれにせよここで強調したいことは、第1に糖鎖の付加がウイルス糖蛋白の輸送に重要な場合があること、第2に糖蛋白の輸送経路には RER→SER (ゴジル装置)、SER (ゴジル装置)→細胞膜の間に質的に異なった少なくとも二つの輸送機構が考えられるということである。VSV⁸⁶⁾、インフルエンザウイルス⁸⁷⁾、アルファウイルス (SFV, Sindbis)⁸⁸⁾⁻⁹¹⁾などでウイルス糖蛋白の輸送に関する ts 変異株が報告されており、これらのウイルスの中には非許容温度で糖蛋白が RER にとどまるもの、さらには SER (ゴジル装置) にとどまるものなどが含まれている。このことは上記の考えを支持している。

最近 Schmidtら⁹²⁾⁻⁹⁴⁾は VSV, Sindbis, インフルエンザウイルスの糖蛋白のセリン残基に、ゴジル装置から細胞膜へ輸送される間に数分子のパルミチン酸が共有結合するということを報告した。この糖蛋白に結合した脂肪酸の役割は今のところ不明であるが、次のように可能性が考えられている。①脂肪酸の結合は糖蛋白の三次構造を修飾する。②糖蛋白を細胞膜に固定する。③糖蛋白のゴジル装置から細胞膜への輸送に必要である⁹⁵⁾。Chatisら⁹⁶⁾は NDV についてこれを調べ、F にはパルミチン酸が共有結合しているが HN には結合していないことを示し、少なくとも NDV の HN についてはその輸送、粒子へのとりこみに脂肪酸による修飾は必要ないとしている。

ウイルス糖蛋白輸送の極性を決める機構については何もわかっていない。ただこれらの糖蛋白はゴジル装置以降で付加されるガラクトース、フコースや SO_4^{2-} を有している、ゴジル装置又はそれ以降の過程で方向性が

決められるのではないかと考えられている⁷⁷⁾。また, tunicamycin で糖鎖の付加を阻害してもその極性は変わらないことから⁷⁶⁾, 糖鎖の付加はこれに関係ないと考えられる。硫酸化の意義についても不明である。

真核細胞の細胞質に coated vesicle と呼ばれる脂質二重層とクラスリン (clathrin, M.W. 180,000) 蛋白からなる構造物が見出され多くの細胞内輸送機構に関与していることが報告されている^{97), 98)}。パラミキソウイルスについてはまだ報告はないが, VSV^{99), 100)}などでその関与が報告された。ウイルス糖蛋白の輸送機構を明らかにする上で今後の検討が必要である。

以上述べてきたようにウイルス糖蛋白の細胞内輸送はかなり複雑で, パラミキソウイルスについてはその研究はまだ端緒についたにすぎない。

ウイルス糖蛋白の輸送の問題との関連性は不明であるが, ここで posttranslational modification の一つであるリン酸化について触れておきたい。HVJ^{101), 102)} やムンプス¹⁰³⁾ ではウイルス構成蛋白のうち P, NP, HN, F, M が細胞内でリン酸化される。P, NP のリン酸化についてはウイルス RNA の転写との関係が考えられているがその実体については不明である。この他に① NP に結合したリン酸は RNP の表面に存在する, ②ウイルス糖蛋白のリン酸はエンベロープ内に存在するらしい, ③感染細胞内にはリン酸の結合した M(B) としない M が存在するが, 粒子中には主にリン酸の結合していない M が存在する, ことなどからウイルス蛋白のリン酸化がこれらの蛋白分子間相互作用に影響を与え, ウイルスアセンブリーに関与している可能性が示唆されている。

3. ウイルスアセンブリー

細胞膜に到達したウイルス素材はどのようにしてウイルス粒子に組織化されるのであろうか。この点に関して 1960 年代後半から 1970 年代初めにかけて Compans らによって SV5 感染細胞の詳細な電顕による観察がおこなわれた^{3), 61), 104), 105)}。感染細胞の細胞膜は最初非感染細胞のそれと何ら差はないが, すでにウイルス糖蛋白の存在する時期がある。この時期の細胞膜には赤血球が吸着し, フェリチンで標識した抗ウイルス糖蛋白抗体が結合する。しかしスパイクは見えず細胞内に存在する RNP は細胞膜に結合していない。その後, 細胞膜の外側にはパッチ状にスパイクが密に配列しその内側には RNP が規則的に配列して結合するようになる。このことは RNP の細胞膜への結合にはウイルス糖蛋白以外の何かが細胞膜にとりこまれる必要のあること, またそのことによってあるいは RNP が細胞膜に結合することによって細胞膜上のスパイクは見えるようになることを示唆している。以

上のことから細胞膜上でのパラミキソウイルスのアセンブリーは次のような各ステップからなると考えられた。
①ウイルス糖蛋白が細胞膜にとりこまれる (細胞膜は形態学的には正常に見える)。②糖蛋白以外の蛋白が細胞膜に結合する。③その部分に RNP が結合する。④同時に密に配列したスパイクのパッチもみえるようになる。
⑤出芽がおきる。

McScharry¹⁰⁶⁾ は SV5 と VSV を混合感染させこれらの合の子ウイルスを得た。このウイルスは糖蛋白として SV5 の HN, F 及び VSV の G, 内部蛋白としては VSV の M, N のみを持ち VSV と同じ砲弾形をしていた。このことは M と N の間に何らかの特異的相互作用のあることを示唆しており, RNP の細胞膜への結合を誘導する因子として M が最も考えやすいことを示している。

ウイルス蛋白の分子間相互作用における M の特異な性質は, まず HVJ 粒子の分画実験及び再構成実験によって明らかにされた。吉田ら⁶³⁾ は HVJ 粒子を非イオン性界面活性剤 Tween 20 (pH10) で壊し塩化セシウム平衡遠心で分画し, 通常の RNP (幅 20nm) からなるバンド以外に次のようなバンドを得た。一つは一層の粒子状の構造物で鞘状におおわれた RNP (幅 33nm) のバンドで, この蛋白組成は NP と M であった。もう一つはエンベロープのゴーストと思われる構造物からなるバンドで, これには HN, F と大量の M が存在し NP は殆ど存在しなかった。以上のことは M が RNP とエンベロープの双方に結合能を有することを示している。M が RNP と結合能を有することは清水ら³⁴⁾ や McScharry⁶⁴⁾ によっても示された。つぎに吉田ら⁶³⁾ は M が実際に RNP とエンベロープの結合を橋渡しできるかどうかを知るために試験管内再構成実験をおこなった。HVJ 粒子構成成分を GP+エンベロープ脂質, NP, M に分け, これらをいろいろな組合せで混ぜ, これから界面活性剤をセファデックス G200 カラムクロマトで除去し, 再構成エンベロープと M, NP の結合を検討した。その結果, M は再構成エンベロープに結合するが NP は結合できないこと, そして NP は M が存在する時にはじめて再構成エンベロープに結合できることが示された。このことは RNP が M を介して細胞膜に結合するということを強く示唆している。さらに吉田ら⁶⁶⁾ はウイルス感染細胞の中で実際にこのことがおこっていることを HVJ 持続感染細胞から分離した M の ts 変異株 (HVJ cl. 151) を使用して確かめた。この ts 変異株の M は非許容温度では合成された後すみやかに分解されと考えられ細胞内に検出されない。しかし他の RNP, P, L やウイルス糖蛋白 (F) の合成は正常であり, さらにウイルス糖蛋白の細胞膜への輸送も正常である。この細胞から細胞膜を分離してそこに

存在するウイルス蛋白を同定すると、ウイルス糖蛋白のみが存在し、細胞質に多量の RNP が存在するにもかかわらずそれは細胞膜に結合していなかった。ところが許容温度で M が合成されると全てのウイルス構成蛋白が細胞膜に存在した。このことからパラミキソウイルスの RNP は細胞膜の内側に存在する M を識別し、これとの親和性によって細胞膜の内側に結合すると結論された。

ところで、ウイルスエンベロープ前駆体は細胞膜上でどのようにして形成されるのであろうか、上に述べたように HVJ cl. 151 を非許容温度で増殖させると細胞膜にはウイルス糖蛋白のみが存在している。この時フェリチン抗体を使用した免疫電顕でウイルス糖蛋白を観察すると、糖蛋白は細胞膜全周に均一に分布しているが、スパイクとしては識別できない。この細胞に抗ウイルス糖蛋白抗体を反応させると細胞膜上のウイルス糖蛋白は急速に redistribution をおこし 10 分以内にキャップ形成を示す。このことは M 蛋白が存在しない時細胞膜に輸送されたウイルス糖蛋白は非常に動きやすい状態で細胞膜全体に均一に存在していることを示している。しかもこのウイルス糖蛋白はスパイクとして識別できず、Compans が SV5 感染初期に観察したのと同じ状態（すでにウイルス糖蛋白が細胞膜上に存在して血球吸着能を示すが形態学的には正常にみえる）であると考えられる。ウイルスエンベロープ前駆体を形成するためにはこれらの糖蛋白は細胞膜の一定の部位に集められ固定されたパッチを形成する必要がある。許容温度で増殖させた HVJ cl. 151 感染細胞の細胞膜上の糖蛋白の動きやすさを同じように抗体による糖蛋白の redistribution でみると、その速度は遅くかつ不完全で 30 分たっても部分的なキャップ形成が見られるにすぎない。この細胞を電顕で観察するとスパイクが細胞膜上の一定の部位に密に配列してエンベロープ前駆体が形成されており、そこには RNP が結合しているのが観察された。以上のことは、細胞膜上のウイルス糖蛋白が細胞膜の内側に結合した M によって固定、濃縮され、このことによってエンベロープ前駆体が形成されることを示唆している。

この仮説を妥当とする上で考えておかなければならない問題がいくつかある。一つはウイルス糖蛋白が細胞膜の脂質二重層を貫通して直接的に M と作用しあうことができるかどうかであり、もう一つは M はどのようにしてウイルス糖蛋白を固定できるかという問題である。第 1 の問題に関しては、すでにウイルスの構造のところで述べたように最近パラミキソウイルスの糖蛋白は細胞膜を貫通しているらしいといういくつかの証拠が示されており、M と糖蛋白の直接的な相互作用の存在はほぼ間違いないものと考えられる。しかしこのことは M と脂質との

相互作用の存在を否定するものではない。第 2 の M によるウイルス糖蛋白の固定の問題については、分子架橋剤によってウイルス粒子内の M は容易にホモポリマーを形成すること（前述）で示されたように、M が細胞膜の内側に一定の大きさのパッチを形成するためであろうと考えられた。M が細胞膜に結合することによって細胞膜上にスパイクが識別できるようになるのは、このようにして細胞膜上に分散していたウイルス糖蛋白が M によって細胞膜の一定の部位に固定、濃縮されるからであろうと推定される。

M 蛋白分子間の相互作用については最近さらに詳しく検討された。Bächi¹⁰⁷⁾ は HVJ 感染細胞の細胞膜を freeze-fracture 法で観察したところ、細胞膜の RNP が結合した部位の細胞質面に 7.5nm の周期性 (spacing) をもつパッチ状の結晶様配列をみつけた。さらに最近 Heggeness ら¹⁰⁸⁾ は精製した HVJ の M 蛋白は試験管内で凝集する際、M のダイマーからなると考えられる環状構造が幅 7.2nm のストランドを形成し、これを基本単位として管状構造 (narrow tube, wide tube) や平面構造が出来ることを見出した。narrow tube は以前 Hewitt ら¹⁰⁹⁾ が報告したものと同じものである。Bächi が報告した細胞膜のパッチ状結晶構造の周期性とこの M 蛋白によってできた平面構造の周期性がよく似ており、Bächi のみつけた細胞膜の結晶様構造は M 蛋白によるものと考えられる。また HVJ の RNP のらせん構造のピッチは高塩濃度で 5.6nm であるが、前述のように等張の条件ではらせん構造はもっとゆるくなるので、M のパッチの 7.5nm の周期構造は RNP がそれに結合するのに適していると考えられる。精製ウイルス粒子中には宿主細胞の膜蛋白は殆どみつからず、これらの蛋白はエンベロープ形成過程で排除されたと考えられている。これはこのような M 蛋白分子間の相互作用、さらにウイルス糖蛋白と M の特異的相互作用によって説明できるであろう。

細胞膜への M 及び RNP の結合がおそらく出芽開始のきっかけになるのであろうが、出芽の機構についてはまだ何もわかっていない。

またパラミキソウイルス粒子中には宿主細胞のアクチンが存在する¹¹⁰⁾。さらに試験管内でアクチンは M や NP と結合するという報告もあるが^{57), 111)}、細胞骨格系のウイルスアセンブリーへの関与については今後に残された問題である。

以上述べてきたパラミキソウイルスの成熟過程を図 2 のようにまとめることができる。

図2 パラミキソウイルスの成熟過程。

(1) RERにおけるウイルス糖蛋白の合成, RER内腔への挿入;(2), (3), (4), (5) SER (ゴルジ装置)を経て細胞膜への糖蛋白の輸送;(6) 糖蛋白へのM蛋白の結合;(7), (8) エンベロープ前駆体の形成とそれへのRNPの結合;(9) 出芽;(10) 完成ウイルス粒子。

文 献

- 岡田吉美 (1980) : 蛋白質, 核酸, 酵素 **25** : 1-19.
- Matsumoto, T. (1982) : Microbiol. Immunol. **26** : 285-320.
- Choppin, P. W. and Compans, R. W. (1975) : In Fraenkel-Conrat, H. and Wagner, R.R.(eds), Comprehensive Virology, Vol. 4, 99-178, Plenum Press, New York.
- Ishida, N. and Homma, M. (1978) : Adv. in Virus Res. **123** : 349-383.
- Hosaka, Y. and Shimizu, K. (1977) : In Poste, G. and Nicolson, G. L. (eds.), Virus Infection and the Cell Surface, p. 47-81, North-Holland, Amsterdam.
- Rott, R. and Klenk, H.-D. (1977) : In Poste, G. and Nicolson, G. L. (eds.), Virus Infection and the Cell Surface, p. 47-81, North-Holland, Amsterdam.
- Compans, R.W. and Klenk, H.-D. (1979) : In Fraenkel-Conrat, H. and Wagner, R. R. (eds), Comprehensive Virology, Vol. 13, p. 293-407.
- 保坂康弘 (1982) : ウイルス **32** : 57-63.
- Scheid, A., Caligiuri, L. A., Compans, R. W. and Choppin, P. W. (1972) : Virology **50** : 640-652.
- Tosawa, H., Watanabe, M. and Ishida, N. (1973) : Virology **55** : 242-253.
- Homma, M., Tosawa, H., Shimizu, K. and Ishida, N. (1975) : Jpn. J. Microbiol. **19** : 467-470.
- Homma, M. and Ohuchi, M. (1973) : J. Virol. **12** : 1457-1465.
- Scheid, A. and Choppin, P.W. (1973) : J. Virol. **11** : 263-271.
- Scheid, A. and Choppin, P.W. (1974) : Virology **57** : 470-490.
- Shimizu, K., Shimizu, Y. K., Kohama, T. and Ishida, N. (1974) : Virology **62** : 90-101.
- 本間守男 (1975) : ウイルス **25** : 7-18.
- 永井美之 (1977) : 蛋白質, 核酸, 酵素 **22** : 385-395.
- 永井美之 (1981) : 自然 **36** : 44-55.
- Chinchar, V. G. and Portner, A. (1981) : Virology **109** : 59-71.
- Kingsbury, D.W. (1973) : Curr. Top. Microbiol. **59** : 1-33.
- Kolakofsky, D., Boy De La Tour, E. and Brusch, A. (1974) : J. Virol. **14** : 33-39.
- Nonomura, Y. and Kohama, K. (1974) : J. Mol. Biol. **86** : 621-626.
- Compans, R. W. and Choppin, P. W. (1967) : Virology **33** : 344-346.
- Hosaka, Y. (1968) : Virology **35** : 445-457.
- Finch, J. J. and Gibbs, A. J. (1970) : J. Gen. Virol. **6** : 141-150.
- Huang, A. S., Baltimore, D. and Bratt, M. A. (1971) : J. Virol. **7** : 389-394.
- Shatkin, A. J. (1974) : Annu. Rev. Biochem. **43** : 643-665.
- Kolakofsky, D. and Burschi, A. (1975) : Virology **66** : 185-191.
- Leppert, M., Kort, L. and Kolakofsky, D. (1977) : Cell **12** : 539-552.
- Ames, L. S., Pridgen, C. L. and Kingsbury, D. W. (1982) : Virology **118** : 17-27.
- Hosaka, Y., Kitano, H. and Ikeguchi, S. (1966) : Virology **29** : 205-221.
- Heggeness, M. H., Scheid, A. and Choppin, P. W. (1980) : Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **77** : 2631-2635.
- Heggeness, M. H., Smith, P. R., Ulmanen, I., Krug, R. M. and Choppin, P. W. (1982) : Virology **118** : 466-470.
- Shimizu, K. and Ishida, N. (1975) : Virology **67** : 427-437.
- Hamaguchi, M., Yoshida, T., Nishikawa, K., Naruse, H. and Nagai Y. (1983) : Virology **127** : (in press)
- Blough, H. A. and Lawson, D. E. M. (1968) : Virology **36** : 286-292.
- Klenk, H.-D. and Choppin, P.W. (1969) : Virology **38** : 255-268.
- Klenk, H.-D. and Choppin, P.W. (1970a) : Virology **40** : 939-947.
- Klenk, H.-D. and Choppin, P.W. (1970b) : Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **66** : 57-64.
- Landsberger, F. R., Compans, R. W., Choppin, P. W. and Lenard, J. (1973) : Biochemistry **12** :

- 4498-4502.
- 41) Maeda, T., Asano, A., Okada, Y. and Ohnishi, S.-I. (1977) : J. Virol. **21** : 232-241.
- 42) Scheid, A., Gravas, M. C., Silver, S. M. and Choppin, P. W. (1978) : *In* Mahy, B. W. J. and Barry, R. D. (eds.), Negative Strand Viruses and the Host Cells, Academic Press, London, p. 181-193.
- 43) Markwell, M. N. K. and Fox, C. F. (1980) : J. Virol. **33** : 152-166.
- 44) Klenk, H.-D., Caligui, L. A. and Choppin, P. W. (1970c) : Virology **42** : 473-481.
- 45) Kohama, T., Shimizu, K. and Ishida, N. (1978) : Virology **90** : 226-234.
- 46) Nakamura, K., Homma, M. and Compans, R. W. (1982) : Virology **119** : 474-487.
- 47) Scheid, A. and Choppin, P. W. (1974) : Virology **62** : 125-133.
- 48) Iinuma, M., Yoshida, T., Nagai, Y., Maeno, K., Matsumoto, T. and Hoshino, M. (1971) : Virology **46** : 663-677.
- 49) Shimizu, K., Hosaka, Y. and Shimizu, Y. K. (1972) : J. Virol. **9** : 842-850.
- 50) Hosaka, Y. and Shimizu, Y. K. (1972) : Virology **49** : 627-639.
- 51) Hsu, M.-C., Scheid, A. and Choppin, P. W. (1979) : Virology **95** : 476-491.
- 52) Maeno, K., Yoshida, T., Iinuma, M., Nagai, Y., Matsumoto, T. and Asai, J. (1970) : J. Virol. **6** : 492-499.
- 53) Chen, C., Compans, R. W. and Choppin, P. W. (1971) : J. Gen. Virol. **11** : 53-58.
- 54) Nagai, Y., Yoshida, T., Yoshii, S., Maeno, K. and Matsumoto, T. (1975) : Med. Microbiol. Immunol. **161** : 175-188.
- 55) Nagai, Y., Ogura, H. and Klenk, H.-D. (1976) : Virology **69** : 523-538.
- 56) Yoshida, T., Nagai, Y., Maeno, K., Iinuma, M., Hamaguchi, M., Matsumoto, T., Nagayoshi, S. and Hoshino, M. (1979) : Virology **92** : 139-154.
- 57) Tyrrell, D. L. J. and Ehrnst, A. (1979) : J. Cell Biol. **81** : 396-402.
- 58) Lyles, D. S. (1979) : Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. **76** : 5621-5625.
- 59) 中村喜代人, 本間守男 (1982) : 第30回日本ウイルス学会演説抄録, 1016.
- 60) Nagai, Y., Yoshida, T., Hamaguchi, M., Iinuma, M., Maeno, K. and Matsumoto, T. (1978) : Arch. Virol. **58** : 15-28.
- 61) Compans, R. W., Holmes, K. V., Dales, S. and Choppin, P. W. (1966) : Virology **30** : 411-426.
- 62) Schulze, I. T. (1972) : Virology **47** : 181-196.
- 63) Yoshida, T., Nagai, Y., Yoshii, S., Maeno, K., Matsumoto, T. and Hoshino, M. (1976) : Virology **71** : 143-161.
- 64) McSharry, J. J., Compans, R. W., Lackland, H. and Choppin, P. W. (1975) : Virology **67** : 365-374.
- 65) Gregoriades, A. (1973) : Virology **54** : 369-383.
- 66) Erikson, A. H. and Kilbourne, E. D. (1980) : Virology **100** : 34-42.
- 67) Rose, J. K. and Gallison, C. J. (1981) : J. Virol. **39** : 519-528.
- 68) Winter, G. and Fields, S. (1980) : Nucleic Acids Res. **8** : 1965-1974.
- 69) Carroll, A. R. and Wagner, R. R. (1979) : J. Virol. **29** : 134-142.
- 70) Cliton, G. M., Little, S. P., Hagen, F. S. and Huang, A. S. (1978) : Cell **15** : 1455-1462.
- 71) Lamb, R. A. and Choppin, P. W. (1977) : Virology **81** : 371-381.
- 72) Nagai, Y. (1973) : J. Virol. **11** : 479-486.
- 73) Lazarowitz, S. G., Compans, R. W. and Choppin, P. W. (1971) : Virology **46** : 830-843.
- 74) 永井美之, 浜口道成, 吉田哲也 (1981) : 第29回日本ウイルス学会演説抄録, 3050.
- 75) Rodriguez Boulan, E. and Sabatini, D. D. (1978) : Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. **75** : 5071-5075.
- 76) Roth, M. G., Fitzpatrick, J. P. and Compans, R. W. (1979) : Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. **76** : 6430-6434.
- 77) Rodriguez Boulan, E. and Pendergast, M. (1980) : Cell **20** : 45-54.
- 78) Blobel, G. and Dobberstein, B. (1975) : J. Cell Biol. **67** : 835-851.
- 79) Rothman, J. E. and Lodish, H. F. (1977) : Nature **269** : 775-780.
- 80) Lingappa, V. R., Katz, F. N., Lodish, H. F. and Blobel, G. (1978) : J. Biol. Chem. **253** : 8667-8670.
- 81) 中村喜代人 (1980) : 核酸, 蛋白質, 酵素 **25** : 30-48.
- 82) 小浜友昭 (1981) : 核酸, 蛋白質, 酵素 **26** : 2099-2115.
- 83) Hubbard, S. C. and Ivatt, R. J. (1981) : Annu. Rev. Biochem. **50** : 555-583.
- 84) Nakamura, K. and Compans, R. W. (1978) : Virology **84** : 303-319.
- 85) Gibson, R., Sclesinger, S. and Kornfeld, S. (1979) : J. Biol. Chem. **254** : 3600-3607.
- 86) Knipe, D. M., Baltimore, D. and Lodish, H. F. (1977) : J. Virol. **21** : 1149-1158.
- 87) Lohmeyer, J. and Klenk, H.-D. (1979) : Virology **93** : 134-145.
- 88) Saraste, J., Bonsdorff, C.-H., Hashimoto, K., Kääriäinen, L. and Keränen, S. (1980) : Virology **93** : 134-145.
- 89) Kääriäinen, L., Hashimoto, K., Saraste, J., Virtanen, I. and Penttinen, K. (1980) : J. Cell Biol. **87** : 783-791.
- 90) Hashimoto, K. and Shimizu, B. (1982) : Virology **119** : 276-287.
- 91) 橋本雄之 (1982) : 生化学 **57** : 1033-1047.
- 92) Schmidt, M. F. G. and Schlesinger, M. J. (1979) : Cell **17** : 813-819.

- 93) Schmidt, M.F.G. and Schlesinger, M.J. (1979) : Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **76** : 1687-1691.
- 94) Schmidt, M.F.G. and Schlesinger, M.J. (1980) : J. Biol. Chem. **255** : 3334-3339.
- 95) Schlesinger, M. J., Magee, A. I. and Schmidt, M. F. G. (1980) : J. Biol. Chem. **255** : 10021-10024.
- 96) Chatis, P. A. and Morrison, T. G. (1982) : J. Virol. **43** : 342-347.
- 97) Keen, J. H., Willingham, M. C. and Pastan, I. (1981) : J. Biol. Chem. **256** : 2583-2544.
- 98) Pearse, B. M. F. and Bretscher, M. S. (1981) : Annu. Rev. Biochem. **50** : 85-101.
- 99) Rothman, J. E. and Fine, R. E. (1980) : Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **77** : 780-784.
- 100) Rothman, J. E., Brusztyn-Pettegrew, H. and Fine, F. (1980) : J. Cell Biol. **86** : 162-177.
- 101) Lamb, R. A. and Choppin, P. W. (1977) : Virology **81** : 382-397.
- 102) Hsu, C.-H. and Kingsbury, D. W. (1982) : Virology **120** : 225-234.
- 103) Naruse, H., Nagai, Y., Yoshida, T., Hamaguchi, M., Matsumoto, T., Isomura, S. and Suzuki, S. (1981) : Virology **112** : 119-130.
- 104) Compans, R. W. and Choppin, P. W. (1971) : *In* Maramorosch, K. and Kurstak, F. (eds.), Comparative Virology, p. 407-432, Academic Press, New York.
- 105) Compans, R. W. and Choppin, P. W. (1973) : *In* Dalton, A. J. and Hagenau, F. (eds.), Ultrastructure of Animal Viruses and Bacteriophages, p. 213-237, Academic Press, New York.
- 106) McSharry, J. J., Compans, R. W. and Choppin, P. W. (1971) : J. Virol. **8** : 722-729.
- 107) Bachi, T. (1980) : Virology **106** : 41-49.
- 108) Heggeness, M. H., Smith, P. R. and Choppin, P. W. (1982) : Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **79** : 6232-6236.
- 109) Hewitt, J. A. and Nermut, M. V. (1977) : J. Gen. Virol. **34** : 127-136.
- 110) Lamb, R. A., Mahy, B. W. J. and Choppin (1976) : Virology **69** : 116-131.
- 111) Giuffre, R. M., Tovell, D. R., Kay, C. M. and Tyrrel, D. L. J. (1982) : J. Virol. **42** : 963-968.
- 112) Nagai, Y. and Klenk, H. -D. (1977) : Virology **77** : 125-134.
- 113) Buetti, E. and Choppin, P. W. (1977) : Virology **82** : 493-508.
- 114) Hopp, T. P. and Woods, K. R. (1981) : Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **78** : 3824-3828.