

# 内在性小胞体内 A 粒子の構成蛋白に関する研究 — アデノウイルス12型誘発マウス腫瘍に認められる粒子について —

香川医科大学病理学講座第一病理学 (指導: 大森正樹教授)

平 川 栄 一 郎

(平成元年12月15日受稿)

**Key words:** 小胞体内 A 粒子, アデノウイルス誘発腫瘍, 構成蛋白分析, reversed phase-HPLC

## 諸 言

殆どすべての哺乳動物の正常細胞 DNA 中にはレトロウイルスがプロウイルスゲノムとして存在しており, この内在性腫瘍ウイルスは自然の状態や物理化学的因子により増殖が活性化される<sup>1,2)</sup>. A 型粒子は細胞質内及び小胞体内に認められるが, 細胞質内 A 粒子はマウス乳癌ウイルスである B 型粒子の細胞質内未熟形であることがわかっている<sup>3)</sup>. しかし小胞体内 A 粒子(以下 A 粒子) については研究が未だ充分でない。この A 粒子には逆転写酵素活性が認められておりレトロウイルス様の粒子と考えられている<sup>4,5)</sup>. これは電子顕微鏡的には小胞体に局在するウイルスで外径約70nm のドーナツ状の外殻と内殻, 及び中心部の電子密度の低い淡明な core を有するもので<sup>6)</sup>, マウス胎芽の正常細胞や新生仔マウスの胸腺細胞<sup>6,7)</sup>, 又, マウスの形質細胞腫瘍や神経芽細胞腫瘍の腫瘍細胞中<sup>8,9)</sup>に見出されている。内在性 A 粒子遺伝子はマウス<sup>10)</sup>及びハムスター<sup>11)</sup>でクローニングされており, マウスではハプロイドあたり約1000個存在し, プロウイルスの検索では少なくとも数種類に分類される<sup>4,10,12)</sup>.

我々が移植継代している D 株<sup>13)</sup>は新生仔マウスにヒトアデノウイルス12型を接種して誘発された腫瘍で A 粒子を大量に産生するという特徴を有している<sup>14,15)</sup>. 本実験では, この A 粒子の構成蛋白を SDS-PAGE 及び 2 次元電気泳動により分析し, その分子量約70K ダルトンの主要構成蛋白成分 K70の逆相高速液体クロマトグラ

フィーを用いた精製法の確立を試みた。

## 材料及び方法

### 1. 腫瘍組織

ヒトアデノウイルス12型 Huie 株(岡山大学矢部教授より付与された)を C3Hf/OK マウス<sup>17)</sup>新生仔に接種して得られた腫瘍を同系マウス皮下に移殖継代している固形腫瘍 D 株<sup>13,14,15)</sup>(継代 428~455代)を用いた。

### 2. ウイルス精製法

A 粒子は大森ら<sup>16)</sup>の方法に従い, 一回に腫瘍組織30~40g を用いて超遠沈法, ショ糖密度勾配遠沈法を用いて分離精製した。ショ糖密度勾配遠沈法で得られたバンドをペレットにし精製 A 粒子として以下の実験に用いた。なお, すべての行程は 4℃で行った。

また電子顕微鏡によるウイルス精製の純度検定用試料としては, ショ糖密度勾配遠沈法により得られた白濁したバンドの各部を各々超遠心によりペレットとし, 4℃で 0.1 M 磷酸緩衝 3% グルタルアルデヒドで固定後, 0.1 M 磷酸緩衝 1% 四酸化オスミウムで後固定し, 脱水後エポキシ樹脂に包埋した。超薄切片は酢酸ウラニウム, 硝酸鉛で重染色し観察した。

### 3. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

Laemmli<sup>18)</sup>の方法により分析用として, 7.5-20%の勾配ゲルを作成し使用した。試料は精製 A 粒子ペレット (2.6mg/ml) を 2% SDS, 5% 2-メルカプトエタノール, 15% (v/v) グリセリ

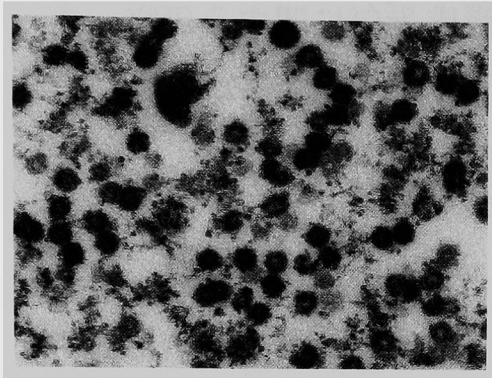


Fig. 1 Electron microscopy of a pellet of purified intracisternal A particles from a fraction of the sucrose density gradient. ( $\times 40,000$ )

ンを含む0.0625M トリス塩酸緩衝液 (pH6.8) 0.9 mlで溶解し100°C 3分間加熱した後6,700g (日立15A アングルローター, 10,000rpm) で5分間遠心し, その上清を用いた。電気泳動は4°C, 30mAで6時間行なった。分子量マーカーは低分子量測定キット (Pharmacia) を使用した。ゲルの染色には0.25% Coomassie brilliant blue R-250 (CBB), 35%エタノール, 9.2%酢酸を含む染色液を用い, 10%メタノール, 10%酢酸溶液で脱色した。

#### 4. 2次元電気泳動

変性条件での2次元電気泳動はO'Farrel<sup>19)</sup>の方法に準じて行った。1次元目としては8.5M尿素, 2% (w/v) Nonidet P-40, 2% (w/v) 両性担体を含む等電点泳動用キャピラリーゲル (1.13 $\times$ 65mm) を作製し, 試料は精製A粒子を0.3% SDS, 8.5M尿素, 8% 2-メルカプトエタノール, 2% (w/v) 両性担体を用いて可溶化し, キャピラリーゲルに5  $\mu$ l添加した。両性担体はAmphorine (40%, pH3.5-10, Pharmacia LKB) を用い200V30分, その後700V 2時間泳動した。泳動終了後ゲルは直ちに2% SDS, 15% (w/v) グリセリン, 5% 2-メルカプトエタノール, 0.0625M トリス塩酸緩衝液中にて10分間平衡化を行い, 2D-SDS PAGプレート (10-20%勾配ゲル, 第一化学薬品) 上に1%アガロース溶液で固定し50mA, 2時間泳動した。CBBを用い染色観察した後10%酢酸で充分に脱色を

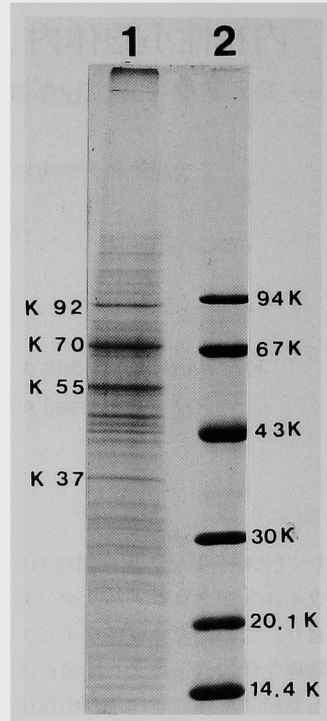


Fig. 2 SDS-PAGE analysis of purified intracisternal A particles. Lane 1 ; Purified A particles. Lane 2 ; Molecular weight markers. The gel was stained with coomassie brilliant blue.

行い, 2D銀染色試薬 (第一化学薬品) を用いて銀染色した。

#### 5. K70の分離, 抽出

分離用12.5%の均一ゲル (6mm厚) はLaemmli<sup>18)</sup>の方法に従い作製し使用した。試料は精製A粒子を2% SDS, 5% 2-メルカプトエタノールで溶解し100°C 3分間加熱し, 6,700g (日立15A アングルローター, 10,000rpm) 5分間遠心しその上清を用いた。4°C, 30mAで32時間泳動した。染色はHagerら<sup>20)</sup>の方法を参考にしてその変法で行った。即ち, 泳動終了後ゲルを蒸留水で3回洗浄した後, 0.25MKCl, 1mM dithiothreitol 中に, 4°Cで3日間保存し発色を行った。白濁したバンドが現れるとCBBで染色したゲル端を参考にしてK70のバンドを切り出した。切りだしたゲルを細切したのちクロマト用ミニカラム (Bio Rad, エコノカラム, 0.7 $\times$ 10cm) につめ, K70を戸田<sup>21)</sup>の方法により

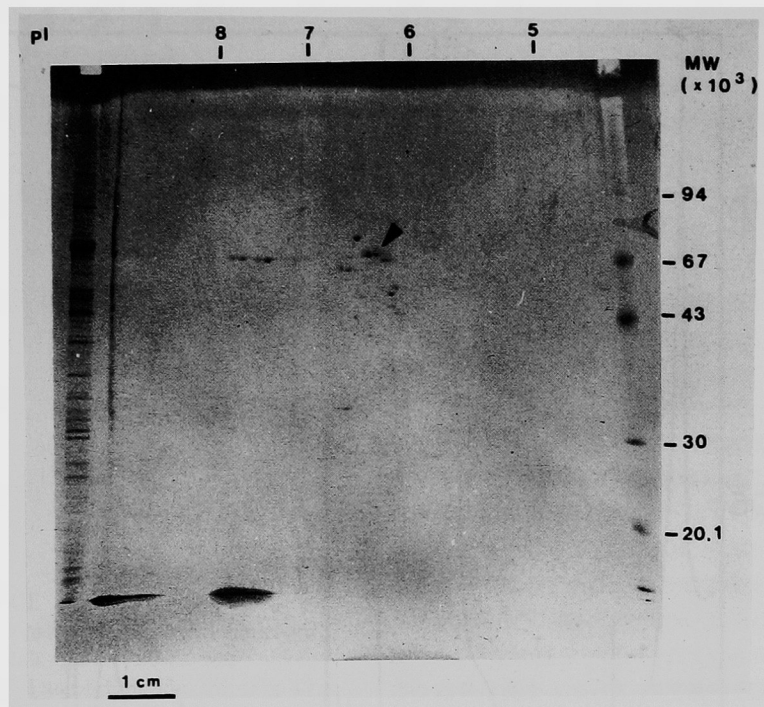


Fig. 3 Two-dimensional slab gel electrophoresis of purified intracisternal A particles. A series of bands of purified intracisternal A particles is at the left-hand position. Molecular weight markers are at the right-hand position. An arrowhead indicates K70. The gel was stained with coomassie brilliant blue.

電気泳動的に25mM トリス, 100mM グリシン, 1% (w/v) SDS, 5%グリセロールを入れた透析膜バッグ中に抽出した。抽出したK70は1 mM p-Amidinophenyl methanesulfonyl fluoride hydrochloride (和光純薬), 1  $\mu$ g/ml Pepstatin A (日本ペプチド研究所), 1  $\mu$ g/ml Leupeptin (日本ペプチド研究所), 1 mM EDTA を入れた後 $-80^{\circ}\text{C}$ に保存した。この抽出K70は12.5%均一ゲルを用いたSDS-PAGEによりバンドが分子量70K ダルトンの位置にあらわれることを確認した。

#### 6. RP(reversed phase)-HPLC

抽出K70の最終精製は高速液体クロマトグラフィ (以下 HPLC) により行った。

酸性条件下の RP-HPLC には分取用逆相カラム  $\mu$ Bondasphare 5  $\mu\text{C}_4$ -300  $\text{\AA}$  (19 $\times$ 150mm; Waters) を用いた。試料は抽出K70の約1/6量の10%トリフロロ酢酸を加え約pH 2に調整した後、カラムに吸着させ、0.1%トリフロロ酢酸を含む

0-60%のアセトニトリル直線勾配(4.0ml/min, 120分間)により溶出した。

中性条件下の RP-HPLC には分析用逆相カラム Asahipak ODP-50 (4.6 $\times$ 150mm;旭化成) を用い試料を吸着させた後、10mM Tris-HCl (pH 7.5) で0-60%のアセトニトリル直線勾配 (0.7 ml/min, 120分) により溶出した。

何れも室温で行い検出は280nmの吸光度に依った。

得られたフラクションは凍結乾燥後、酸性条件下での HPLC フラクションのみ 1 N NaOH でpHを調整し、Laemmli<sup>18)</sup>の方法により SDS-PAG プレート (10-20%勾配ゲル, 第一化学薬品) を用い SDS-PAGE を行った。染色には 2 D 銀染色試薬 (第一化学薬品) を用いた。

## 結 果

### 1. A 粒子の精製

分離精製した A 粒子の純度は電子顕微鏡観察

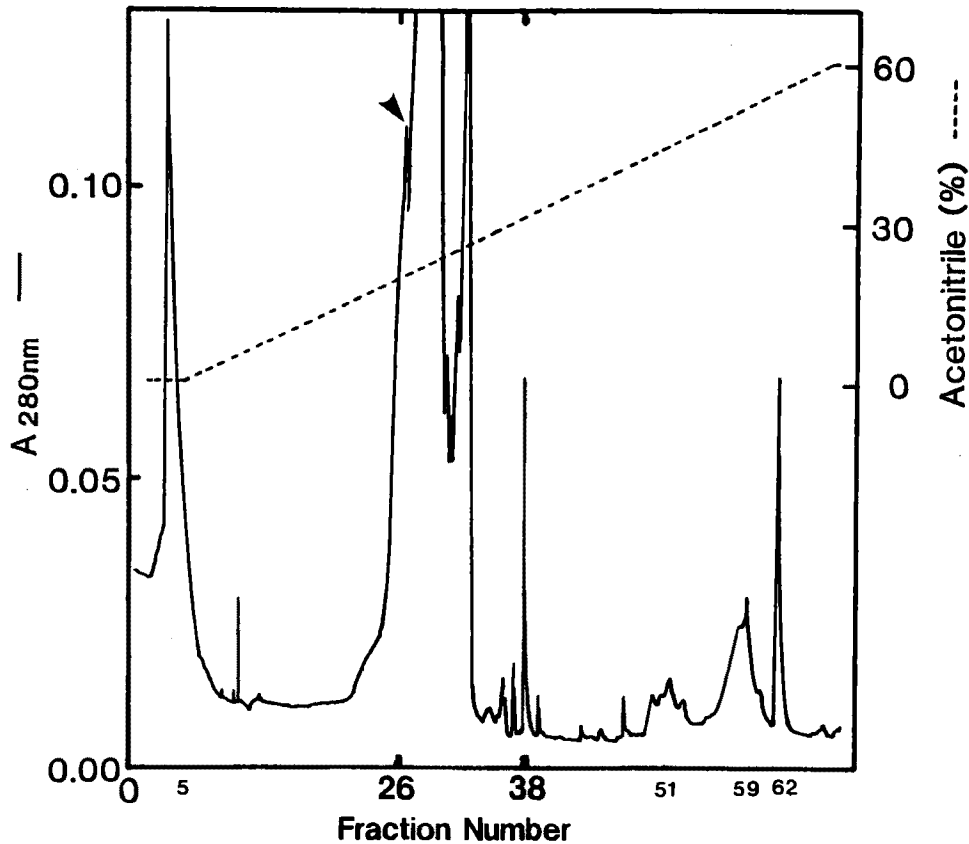


Fig. 4 Chromatogram of a main structural protein, K70, by reversed phase-HPLC. K70 extracted from SDS-polyacrylamide gel was injected onto a Asahipak ODP-50 and eluted at Tris-HCl (pH7.5) with a linear gradient, 0-60%, of acetonitrile. An arrowhead indicates fraction number 26 which contained K70.

により検定した。精製最終段階であるショ糖密度勾配遠沈法により得られた白濁したバンドの上層より作製したペレットではほとんど完全な形のA粒子に混じって空胞などの膜成分も観察された。中層より作製したペレットでは膜成分やリボゾームの混在も少なく直径約70nm大のドーナツ状を呈する被殻をもつA粒子がほぼ純粋に認められ (Fig. 1), これを精製A粒子として以下の実験に用いた。

## 2. SDS-PAGE

精製A粒子の構成蛋白分析をSDS-PAGEで行った結果を Fig. 2 に示した。各マーカー蛋白質 phosphorylase b (94,000), bovine serum albumin (67,000), ovalbumin (43,000), car-

bonic anhydrase (30,000), soybean trypsin inhibitor (20,100),  $\alpha$ -lactalbumin (14,400) の相対移動度 (Rf 値) はそれぞれ 0.367, 0.458, 0.600, 0.758, 0.879, 0.958 であり分子量との関係を示す回帰式は  $\log(\text{分子量}) = 1.440 - 1.331 \times \text{Rf}$  であった。この回帰式よりA粒子の構成蛋白の分子量の推定を行った<sup>22)</sup>。最も主たるバンドは分子量70Kダルトンの位置にあり、大森ら<sup>16)</sup>の報告にあるK70に一致した。このK70以外には分子量92Kダルトン、55Kダルトンの位置に明かなバンド (K92, K55) を認めた。これら主要構成成分以外には、分子量37Kダルトンに1本の、又43Kダルトン付近に4本のサブバンドを副構成成分として認めた。以上のバン

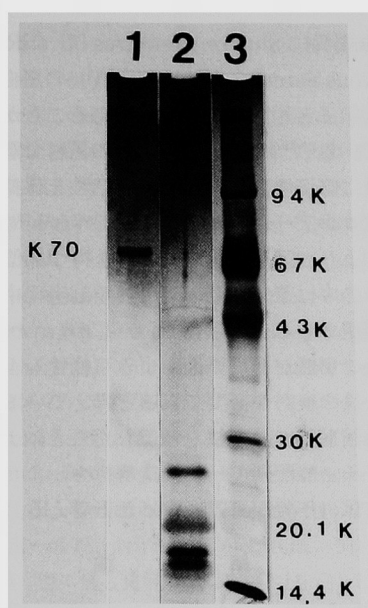


Fig. 5 SDS-PAGE of fractions obtained by reversed phase-HPLC. Acrylamide gradient slab gel (10-20%) was silver-stained. Lane 1; Fraction 26 (Fig. 4). Lane 2; Fraction 38 (Fig. 4). Lane 2 shows some polypeptides broken down from K70. Lane 3; Molecular weight markers.

ド以外にも細いバンドが複数認められた。

### 3. 2次元電気泳動

精製 A 粒子を 2 次元電気泳動した後、CBB 染色した結果を Fig. 3 に示した。主要構成成分である K70 の変性条件下での pI は約 6.5 で、K92 は約 7.0、K55 は約 6.3 であった。

### 4. K70 の精製

分離用 SDS-PAGE から切り出した K70 のバンドより電気泳動的に抽出した蛋白の酸性条件下での RP-HPLC ではフラクションのほとんど全てに分子量約 55K ダルトンのバンドと K70 を認めた。又それらのフラクションの中の一つには K70 を多く認めたが、同時に分子量約 20K ダルトン、22K ダルトンのバンドも認められ、酸性条件下での RP-HPLC による精製は困難であった。

そこで条件を中性に換え、同様の RP-HPLC を試みた。得られたクロマトグラムを Fig. 4 に示し、結果を Fig. 5 に示した。フラクション

38 (Fig. 5, Lane 2) では、主に約 24K、20K、17K、16K ダルトンにバンドを認めた。又これ以外のフラクション 51、58、59、62 の 4 カ所では約 17K ダルトンのバンドをわずかに認め、フラクション 5 に 30K ダルトンのバンドをわずかに認めた。その他のピークについても SDS-PAGE を行ったが、蛋白は検出されなかった。しかし、フラクション 26 (Fig. 5, Lane 1) には、分子量約 70K ダルトンの単一なバンドとしてあらわれる一分画を得ることができた。

## 考 察

小胞体内 A 粒子 (A 粒子) の構成蛋白の分析は現在まで、主に形質細胞腫瘍組織及び神経芽細胞腫培養細胞<sup>9,23,24,25)</sup>で行われている。いずれの報告に於いても分子量約 73K ダルトンの蛋白が主要構成成分であり、他の構成成分としては分子量 30K<sup>23,25)</sup>、46K<sup>23,24,25)</sup>、80K<sup>24)</sup>、100K<sup>23)</sup>、120K<sup>26)</sup> ダルトンの蛋白が認められているが報告者により結果は異なっている。本実験の SDS-PAGE での構成蛋白分析において、分子量約 70K ダルトンに最も明瞭な主要構成成分を認めたことは何れの報告ともほぼ一致したが、他の構成成分については若干異なっていた。アデノウイルス誘発マウス腫瘍では A 粒子及び C 型ウイルスが腫瘍細胞中に誘発されるが、その機序は不明である<sup>14,15,16)</sup>。しかし、A 粒子ウイルスゲノムはマウス遺伝子中にプロウイルスとして多数存在し少なくとも数種類に分類され単一なものではないことが Kuff ら<sup>4,10,12)</sup>により示されており、またアデノウイルス E1A 蛋白は A 粒子の LTR を活性化することが Luria ら<sup>27)</sup>により示されている。従って、A 粒子の構成蛋白成分が他の報告と若干異なっていた原因としては、アデノウイルス誘発腫瘍では種々の A 粒子ゲノムが腫瘍内で同時に発現している可能性と、アデノウイルスで活性化される A 粒子ゲノムは他の腫瘍で発現している A 粒子とは異なった種類のものである可能性とが考えられる。

今回行った 2 次元電気泳動では精製 A 粒子に SDS を加えて可溶化したが、変性条件下での K92 の pI は約 7.0、K70 は約 6.5、K55 は約 6.3 であった。形質細胞腫瘍組織及び神経芽細胞腫培養細胞

胞から分離した A 粒子の分子量73K ダルトンの主要構成成分のアミノ酸分析<sup>23)</sup>によると、酸性アミノ酸と塩基性アミノ酸比(Glu-Asp:Lys-His-Arg)は1.46:1.44であり K70が塩基性蛋白質ではない可能性が示唆されている。これまで A 粒子の構成成分の等電点分析はなされておらず、今回 K70の pI が6.5付近に認められたことはアミノ酸分析で示唆された内容と一致するものであった。また K70や K55などの構成成分の pI が近接していたことは構成成分の等電点による分離やイオン交換樹脂を用いたクロマトグラフィーによる分離が困難である可能性も意味している。分子量約73K ダルトンの、A 粒子主要構成成分の分離精製はこれまで Marciani ら<sup>23)</sup>がゲルクロマトグラフィーを用いて行っているのみである。しかし、この方法では分子量の近接する蛋白の混在の可能性があり純度の点で問題が残っていた。本実験では酸性条件下の RP-HPLC では蛋白分解のために精製が困難であったが、中性条件下では蛋白の分解は軽度で、K70を単一な分画として精製することができた。分解の機序は不明であるが、K70は非常に不安定な特性を有していると考えられる。

C 型ウイルスでは gag 又は gag-pol 前駆体蛋白の分解により各種 gag 蛋白、及びポリメラーゼが生じる<sup>1,20)</sup>。しかし、A 粒子では前駆体蛋白から各種 gag 蛋白や pol 遺伝子産物への分解はおこらないか、又は不完全であると考えられている<sup>26)</sup>。最近マウス及びハムスターの A 粒子の塩基配列が決定され、そのゲノムはレトロウイルスの gag, pol と相同領域をもち、gag 領域の

3'末端側に Simian retrovirus-1 (SRV-1) や Rous Sarcoma Virus (RSV) の蛋白分解酵素遺伝子と相同を示す領域があることが報告されている<sup>26,29,30,31)</sup>。また RSV の蛋白分解酵素は一般に高塩濃度や低pH領域で活性を保持する酸性プロテアーゼであるとされている<sup>32,33)</sup>。以上のことより、蛋白分解酵素活性を持つ部位を K70 自身の中に想定すると、この精製過程での分解を説明できるかもしれない。しかし、ペプチド結合の切断が他の原因による可能性も否定できず今後の検討が必要であると考えている。

今回 K70の精製法を確立したことにより、今後アミノ酸配列の一次構造解析や、より特異的な抗体の作製が可能になったと考える。

## 結 論

1. 中性条件下での RP (reversed phase) -HPLC により小胞体内 A 粒子主要構成蛋白 K70の精製法を確立した。
2. アデノウイルス誘発腫瘍 D 株で活性化された小胞体内 A 粒子の主要構成蛋白成分は K92, K70, K55であった。これは従来の報告と若干異なっていた。
3. 変性条件下での A 粒子構成成分の pI は K70が約6.5, K55が約6.3であった。

論文作成にあたり終始御懇篤な御指導を賜った大森正樹教授に感謝の意を捧げるとともに、貴重な御助言をいただいた小林省二助教授をはじめ第一病理学教室の諸先生、本学内内分泌学講座西望博士に感謝致します。

## 文 献

- 1) 藤永 憲：がん遺伝子の分子生物学，講談社，東京（1985）pp119—135.
- 2) Weiss R, Teich N, Varmus H and Coffin J: RNA Tumor Viruses; Molecular Biology of Tumor Viruses, Second Edition, 1/Text, Cold Spring Harbor Laboratory (1984) pp1109—1132.
- 3) Tanaka H, Tamura A and Tsujimura D: Properties of the intracytoplasmic A particles purified from mouse tumors. *Virology* (1972) 49, 61—78.
- 4) Weiss R, Teich N, Varmus H and Coffin J: RNA Tumor Viruses; Molecular Biology of Tumor Viruses, Second Edition, 2/Supplements and Appendixes, Cold Spring Harbor Laboratory (1985) pp387—391.
- 5) 保坂康弘, 松本 明：電子顕微鏡図説ウイルス学，朝倉書店，東京（1979）pp100—113.

- 6) Calarco PG and Szollosi D : Intracisternal A particles in ova and preimplantation stages of the mouse. *Nature (London), New Biol* (1973) **243**, 91—93.
- 7) Aoki T, Stück B, Old LJ, Hämmerling U and de Harven E : E antigen : A cell-surface antigen of C57BL leukemias. *Cancer Res* (1970) **30**, 244—251.
- 8) Kuff EL, Wivel NA and Lueders KK : The extraction of intracisternal A-particles from a mouse plasma-cell tumor. *Cancer Res* (1968) **28**, 2137—2148.
- 9) Kuff EL, Lueders KK, Ozer HL and Wivel NA : Some structural and antigenic properties of intracisternal A particles occurring in mouse tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* (1972) **69**, 218—222.
- 10) Lueders KK and Kuff EL : Intracisternal A-particle genes : Identification in the genome of *Mus musculus* and comparison of multiple isolates from a mouse gene library. *Proc Natl Acad Sci USA* (1980) **77**, 3571—3575.
- 11) Suzuki A, Kitasato H, Kawakami M and Ono M : Molecular cloning of retrovirus-like genes present in multiple copies in the syrian hamster genome. *Nucleic Acids Res* (1982) **10**, 5733—5746.
- 12) Kuff EL, Smith LA and Lueders KK : Intracisternal A-particle genes in *Mus Musculus* : a conserved family of retrovirus-like elements. *Mol Cell Biol* (1981) **1**, 216—227.
- 13) 佐藤 博 : 癌と化学療法 (1984) 11, (3), PART II, 1—92.
- 14) Ohmori M : Activated endogenous viruses of tumor induced by human adenovirus : An electron microscope study. *Exp Molec Path* (1978) **29**, 260—271.
- 15) Ohmori M, Ohtsuki Y and Kobayashi S : Activation of an endogenous oncogenic virus by human adenovirus in mice. *J Cancer Res Clin Oncol* (1979) **93**, 45—56.
- 16) 大森正樹, 小林省二, 平田 健, 三木 洋 : 内性 C 型粒子と小胞体内 A 型粒子の構成蛋白より見た比較検討. *細胞核病理学雑誌* (1984) **21**, 121—126.
- 17) Ohmori M : Present status and history of the mouse colony of Okayama University Medical School. *Acta Med Okayama* (1981) **35**, 293—306.
- 18) Laemmli UK : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4. *Nature* (1970) **227**, 680—685.
- 19) O'Farrel PH : High resolution two-dimensional electrophoresis proteins. *J Biol Chem* (1975) **250**, 4007—4021.
- 20) Hager DA and Burgess RR : Elution of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels, removal of sodium dodecyl sulfate, and renaturation of enzymatic activity : Results with sigma subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase, wheat germ DNA topoisomerase, and other enzymes. *Anal Biochem* (1980) **109**, 76—86.
- 21) 戸田年総 : 染色後のタンパク質を手作り装置で電気泳動的に抽出する方法. *生化学* (1987) **59**, 1248—1250.
- 22) 朝香鉄一 : 品質管理のための統計的解析. *日本規格協会* (1973) pp192—199.
- 23) Marciani DJ and Kuff EL : Isolation and partial characterization of the internal structural proteins from murine intracisternal A particles. *Biochemistry* (1973) **12**, 5075—5083.
- 24) Wivel NA, Lueders KK and Kuff EL : Structural organization of murine intracisternal A particles. *J Virol* (1973) **11**, 329—334.
- 25) Marciani DJ and Kuff EL : Structural proteins of intracisternal A-particles : Possible repetitive sequences. *J Virol* (1974) **14**, 1597—1599.
- 26) Mietz JA, Grossman Z, Lueders KK and Kuff EL : Nucleotide sequence of a complete mouse intracisternal A-particle genome : Relationship to known aspects of particle assembly and function. *J Virol* (1987) **61**, 3020—3029.

- 27) Luria S and Horowitz M : The long terminal repeat of the intracisternal A particle as a target for transactivation by oncogene products. *J Virol* (1986) **57**, 998—1003.
- 28) Weiss R, Teich N, Varmus H and Coffin J : *RNA Tumor Viruses ; Molecular Biology of Tumor Viruses, Second Edition, 1/Text*, Cold Spring Harbor Laboratory (1984) pp513—648.
- 29) McClure MA, Johnson MS and Doolittle RF : Relocation of a protease-like gene segment between two retroviruses. *Proc Natl Acad Sci USA* (1987) **84**, 2693—2697.
- 30) Ono M, Toh H, Miyata T and Awaya T : Nucleotide sequence of the syrian hamster intracisternal A-particle gene : Close evolutionary relationship of type A particle gene to type B and D oncovirus genes. *J Virol* (1985) **55**, 387—394.
- 31) Power MD, Marx PA, Bryant ML, Gardner MB, Barr PJ and Luciw BP : Nucleotide sequence of SRV-1, a type D simian acquired immune deficiency syndrome retrovirus. *Science* (1986) **231**, 1567—1572.
- 32) Skalka AM : Retroviral proteases : First glimpses at the anatomy of a processing machine. *Cell* (1989) **56**, 911—913.
- 33) Toh H, Kikuno R, Hayashida H, Miyata T, Kugimiya W, Inouye S, Yuki S and Saigo K : Close structural resemblance between putative polymerase of a *Drosophila* transposable genetic element 17.6 and *pol* gene product of Molony murine leukaemia virus : *EMBO J* (1985) **4**, 1267—1272.



**Structural protein analysis of intracisternal  
A particles in adenovirus-induced mouse tumor**

**Eiichiro HIRAKAWA**

**Department of Pathology,**

**Kagawa Medical School,**

**Kagawa 761-07, Japan**

**(Director : Prof. M. Ohmori)**

**Analysis and purification of structural proteins of intracisternal A particles produced in adenovirus-induced tumor were described. SDS-PAGE of purified intracisternal A particles demonstrated its major structural components, K92, K70 and K55, and minor components, K43 and K37. Two dimensional gel electrophoresis indicated a *pI* of K70 and K55 at 6.5 and 6.3, respectively, in the presence of sodium dodecyl sulfate. Purification of the main band, K70, in SDS-PAGE using reversed phase-HPLC was difficult in the standard acidic condition, but could be achieved in the neutral condition. Although purification of K70 is generally difficult because of its hydrophobicity, the method shown here will be useful for further study of structural proteins of intracisternal A particles.**