

Title	MECHANISM OF POST-IRRADIATION DEGRADATION OF DNA IN A RADIOSENSITIVE ESCHERICHIA COLT NG30 IRRADIATED WITH ULTRAVIOLET LIGHT
Author(s)	Yonei, Shuji
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/2153">http://hdl.handle.net/11094/2153</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【22】

氏名・(本籍)	よね 米	い 井	しゅう 脩	じ 治
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	2221	号	
学位授与の日付	昭和46年3月25日			
学位授与の要件	理学研究科生理学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	放射線感受性大腸菌NG30における紫外線照射後の DNA崩壊の機構			
論文審査委員	(主査) 教授	本城 市次郎		
	(副査) 教授	富沢 純一	助教授	野津 敬一

### 論 文 内 容 の 要 旨

大腸菌BのRecA<sup>-</sup>変異株である大腸菌NG30は、紫外線に高感受性であると共に、紫外線照射後の培養に伴ってDNAの急速な崩壊を示す。

又、大腸菌K12から分離されたRecA<sup>-</sup>株も、紫外線照射後の急激なDNA崩壊を示す事が知られているが、最近、堀井等は犬腸菌K12のRecA<sup>-</sup>株を用いてこのDNA崩壊の原因について検討し、この菌でみられるDNA崩壊が、照射時におけるDNA複製の有無に影響される事を観察し、この崩壊は、DNAの複製点における崩壊が、その小部分にとどまらずDNA全体に拡大されていく結果であると報告している。

しかし著者らは、大腸菌NG30がDNA複製の無いと考えられる条件下でも、DNAの著しい崩壊を起す事を観察していた。この研究では大腸菌NG30における紫外線照射後のDNA崩壊の機構について検討すると共に、この崩壊とこの菌の示す紫外線感受性との関連を知ろうとした。

得られた結果は次の通りである。(i) 増殖期にある菌を要求アミノ酸の飢餓状態におく、2. クロラムフェニコール存在下で90分間培養すると、菌のDNA複製は停止する。(ii) これらの条件下においても大腸菌NG30は、紫外線に高い感受性を示し、しかも、DNA複製が無いにもかかわらず、照射後の培養に伴って、DNAの著しい崩壊を示す事が明らかになった。この場合のDNA崩壊の速度は、DNA複製の存在する増殖期の菌に比べると小さいが、紫外線量の増大に対応して著しい。

(iii) DNA複製の無い条件下でのDNA崩壊は、DNA上の特定な部分から起るのではなく、DNA上の多くの部分から等しく起る事が分った。(iv) 大腸菌NG30uvrCの二重変異株を用いた結果から、この菌において紫外線照射によりDNA分子に生じたピリミジンダイマーのexcisionが抑制されるのに対応して、DNAの崩壊も抑制される事を知った。更に、大腸菌NG30のDNA崩壊はカフェインにより軽減される事が分った。カフェインはピリミジンダイマーのexcisionを阻害する事が知られているので、これらの結果は、このDNA崩壊がDNA分子に生じたピリミジンダイマーのexcisionに関

連して起るものである事を示している。(v) 紫外線照射 5 分後、大腸菌 NG 30 の DNA 鎖は、ピリミジンダイマーの DNA からの消失と対応して小分子化している事が、アルカリ性蔗糖濃度勾配遠心のパターンから解析された。更に照射後の培養を継続すると、この菌の DNA は、野生株でみられる様に修復されて正常な大きさの DNA に戻るのではなく、更に小分子化されてゆき、同時に、酸不溶性の分画も継時的に減少している事が観察された。

以上の結果から、大腸菌 NG 30 の紫外線照射後の DNA 崩壊において、最初に起る event は、ピリミジンダイマーの excision であり、それによって生じた DNA 鎖の gap の修復がされない、あるいは完成する前に、その gap が崩壊 site となって、修復機構とは co-ordinate していない崩壊の方が先行し、これが、DNA 全体に拡大されていくものだと考えられる。そして、この様な紫外線照射による DNA 崩壊という現象が誘因となって、この大腸菌 NG 30 が紫外線に対して著しく高い感受性を示すようになると考えられた。

### 論文の審査結果の要旨

DNA 分子の組換え能力をもたない大腸菌変異株のうち、recA タイプに分類される NG 30 では、紫外線照射によって DNA 分子のいちじるしい崩壊が透起されるが、この崩壊の機作をこの菌の高い放射線感受性と関連づけて分析しようとするのが、この研究の目標である。

著者は DNA 複製が停止している菌でも成長期の菌と同様に、紫外線照射後いちじるしい DNA 崩壊がみられることを発見するとともに、この菌が紫外線照射により生成される pyrimidine dimer を DNA 分子から切り出す能力と、その後のできた DNA 分子の gap を修復する能力をもっているにかかわらず、高い放射線感受性を示す理由は、pyrimidine dimer の切り出しにともなう DNA 鎖の切断により誘発される DNA 崩壊にあることを明らかにした。

実際に、まず pyrimidine dimer の切り出しがあって DNA 崩壊がつづいて起ることは、そのような切り出しが行なわれない 2 重変異株の場合や、caffeine 処理の場合の DNA 崩壊の阻害、あるいは DNA 分子のどの部分からでも崩壊がおりうることによって実証できたし、また紫外線照射直後 pyrimidine dimer が酸可溶性分画に遊離されるのに対応して、NG 30 の DNA は野生株と同様に小分子化されるが、後者ではその後の保温でもとの大きな DNA 分子にもどるのに、前者の DNA は一方的に小分子化してゆくことを、アルカリ蔗糖濃度勾配遠心法によって明らかにした。

この論文の内容は、Rec<sup>-</sup>A 菌の性質の解明について分子遺伝学の分野に少なからず貢献するとともに、DNA に対する放射線効果の研究分野においても貢献がいちじるしい研究であって、参考論文とあわせて理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認める。