

Title	Molecular Mechanism of Genetic Recombination in Bacteriophage T7
Author(s)	Tsujimoto, Yoshihide
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24434
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	辻 ^{つじ} 本 ^{もと} 賀 ^{よし} 英 ^{ひで}
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 3859 号
学位授与の日付	昭和52年3月25日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	T ₇ ファージの遺伝的組換えの分子機構
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 倉橋 潔 教授 松原 謙一 助教授 小川 英行

論 文 内 容 の 要 旨

遺伝的組換えは生物に普遍的に観察され、基本的でかつ重要な現象である。

遺伝的組換えは種々の生物で研究されてきたが、その分子機構は、まだ良くわかっていない。組換えの分子機構を、特にDNAのレベルで明らかにするために、最も適した材料の1つと考えられるバクテリオファージT₇を用いて研究を行った。T₇ファージは、DNAが小さく、常に完全な形でそのDNA分子を分離できるうえに、組換え頻度が非常に高い。また遺伝的解析がよく進んでいる。

DNA複製によって持ち込まれる複雑化を避けるために、複製の無い条件を用いて、先づ、組換え途上にあるDNA分子の分離を行った。DNA複製に関与する遺伝子1,3,2,3,4,5に変異を持ち、一方を³²P,他を5-ブロムデオキシウリジンでDNAを重く標識した2種のファージを宿主菌に混合感染し、培養の後、DNAを抽出して両親の中間密度を持つ分子をCsCl密度勾配遠心により分離した。これらの分子を電子顕微鏡下で観察すると、それらは、完全な2つのDNA分子が相互作用してできたと思われる、2つの枝分かれのあるダイマー分子であった。これらの分子が組換えにより生じたものであることを次のようにして証明した。(1)2種の異なる親DNAからなること。T₇DNAは制限酵素EcoRIで全く切断されないが、変異株の1つT₇am28のDNAがその酵素によって1ヶ所切断されることを見出した。この変異を持つ親と持たない親の掛け合わせにより、同様にダイマー分子を分離しEcoRI切断を標識にして、2種のDNAからなることを示した。(2)組換え体を高頻度に形成できること。遺伝的に標識した1ダイマー分子をCaCl₂で処理した宿主に単感染させると、非常に高い頻度で組換え体ファージを作った。またEcoRIによる特異的切断点の発見は、2つのDNA分子の相互作用の部位を分子上に決定することを可能にした。その部位はランダムではなかった。

T₇遺伝子の変異を組合わせ、各条件下で得られる両親の中間密度を持つ分子の構造を比較することにより、次のことが明らかになった。(1)ダイマー中間体の形成、あるいは安定化に5' エキソヌクレアーゼ (遺伝子6) が必須である。(2)T₇DNAポリメラーゼ (遺伝子5) は、この中間体の形成を促進する。T₇DNAポリメラーゼの無い条件下では、ダイマー分子の蓄積がみられない感染初期に、すでにDNAポリメラーゼ存在下ではダイマー分子が観察され、感染後期では、更に枝分かれの多い分子が蓄積される。(3)エンドヌクレアーゼ (遺伝子3) は、枝分かれのある中間体DNAを線状モノマーの組換え体DNA分子に移行させる過程に必要であることを強く示唆する結果が得られた。

以上の結果をもとに組換え過程のモデルを提出した。

論文の審査結果の要旨

遺伝的組換えは生物の基本的現象の1つであるが、その分子機構は未知の部分が多い。組換えの分子機構解明のための最も直接的な方法は、組換え途上にあるDNA分子を分離し、その性質を解析することである。

そこで辻本君は、材料として、その目的に最適なバクテリオファージT₇を用いて、組換え中間体DNAを完全な形で分離することに初めて成功した。このDNA分子は、T₇DNA上に彼が見出した制限酵素EcoRIによる切断部位を利用して、実際に両親DNAが結合したものであることを、またトランスフェクションにより、生物活性を有し高頻度に組換え体ファージを形成することを示して、それらは確かに組換え中間体DNAであるとの結論を導いた。またEcoRI切断部位は両親DNAの結合部位をDNA分子上に決定することをも可能にした。

次にこの系を用いて組換え中間体の形成および中間体DNAから完成した組換えDNAに移行する過程に働く遺伝子産物の同定を行い、同時にその役割を解析することにより組換え過程のほぼ全容を明らかにした。

以上この論文は遺伝現象の基本的問題である遺伝物質の組換えの分子機構の解明にとって重要な見を与えたものであって、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。