

Title	Studies on the Mechanism of $\lambda$ Phage Induction. I. Isolation and Characterization of a $\lambda$ Non-Inducible Mutant of Escherichia coli
Author(s)	Shinagawa, Hideo
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/252">http://hdl.handle.net/11094/252</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

[26]

氏名・(本籍)	品川日出夫
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 3025 号
学位授与の日付	昭和 49 年 3 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	λ フェージ誘発機構に関する研究 I 誘発欠損菌の分離とその性質 II マイトマイシン処理した溶原菌中のレプレッサーの不活化
論文審査委員	(主査) 教授 春名 一郎 (副査) 教授 松代 愛三 助教授 小川 英行

### 論文内容の要旨

テンプレートフェージλは感染後、増殖して溶解する過程と、溶原化して菌の染色体に組み込まれてその一部として共存する過程の二つをとる。溶原化している菌に紫外線照射したり、マイトマイシン C (MMC) 処理をするとフェージの増殖が誘発される。溶原状態ではλフェージのゲノムはレプレッサー (CIタンパク) によってその発現を抑えられている。従って誘発処理によって結果的にはレプレッサーの不活化がおこり、フェージゲノムが発現されてフェージの増殖がおこると考えられている。しかしフェージの誘発機構に関する具体的、直接的知見は非常に乏しい。本研究はその機構の解明を目的とするものである。

本論文の第 I 部では誘発の際のレプレッサーの不活化に宿主菌のどのような機能が関与しているかを遺伝学的に解析するために、既知の誘発欠損菌と性質の異なる新しい変異株を分離して、その種々の性質を研究した。変異株は Jacob 等が分離した T44 (λ) 株 (高温で誘発される) から高温で生存する菌をとり、その中で紫外線及び MMC で誘発されない変異株を選択した。紫外線感受性及び誘発能に関して数種類の変異株を得たが、誘発欠損性を持ち、紫外線感受性をもたない変異株 C72 の性質を更に詳細に調べた。その結果、1) 既知の誘発欠損菌として、*recA*<sup>-</sup>, *exrA*, *uvrF* 等があるが、これらは全て紫外線、マイトマイシン C に感受性が高いが C72 は正常である。2) この株での感染後のフェージの増殖は正常である。3) レプレッサーが温度感受性のフェージ溶原菌 C72 (λC<sub>1</sub>857) を高温で誘発でき、フェージ産生能は正常である。従ってこの株ではレプレッサー不活化の過程に欠損があると考えられる。更に本論文第 II 部で示されているように、MMC 処理によってこの株の菌体内のレプレッサーの活性をλ DNA とのオペレーターとの結合能で測ると、不活化されないことが確かめられた。4) F 因子の導入及び Hfr とのかけ合わせの際の遺伝子組換え能は正常である。5) HfrH (λ) と C72 との接合誘発能は正常であった。6) F' をもつ菌を紫外線照射して C72 (λ) と接合させて紫

外線間接誘発能を調べると誘発されなかった。以上の実験結果から C72 は紫外線及びマイトマイシン C に感受性でなく、遺伝子組換えが正常である点では既知の誘発欠損菌と異なるユニークな変異株であり、接合誘発能及び紫外線間接誘発能に関しては *recA* と同様の表現型を示し、その欠損はレプレッサーの不活化の過程に関与していることが示された。

第 II 部：今迄の遺伝的解析や *in vitro* の知見から誘発は溶原菌内のレプレッサーの不活化によっておこると考えられているが実際に溶原菌でのレプレッサー不活化の直接的証明はない。MMC 処理後、菌体内でレプレッサー活性の変化を測定して誘発の機構に関する知見を増すために以下の実験を行なった。

MMC 処理した溶原菌の粗抽出液を作り、その中の  $\lambda$  DNA のオペレーター部域との特異的結合能によってレプレッサーのレベルを測定した。その結果、野性株 C600 ( $\lambda^+$ ) では MMC 処理後レプレッサーのレベルは減少したが誘発欠損株である C600 *recA* ( $\lambda^+$ ) や C600 C72 ( $\lambda^+$ ) では処理によって減少しなかった。高温で誘発される変異株 C600 T44 ( $\lambda^+$ ) では温度を上げるとレプレッサー活性は失なわれた。クロマイを用いた実験の結果 C600 ( $\lambda^+$ ) では MMC 処理後のレプレッサーの不活化には *de novo* のタンパク合成が必要であるが T44 ( $\lambda^+$ ) での高温による誘発にはタンパク合成が必要でないことが示唆された。従って誘発可能な溶原菌においては誘発処理によってレプレッサー活性レベルは減少するが、誘発欠損菌では同じ処理によっても減少しないことが明らかになった。

MMC 処理細胞の粗抽出液からレプレッサーの  $\lambda$  DNA のオペレーター部域の結合能を不活化する因子 (effector 又は inducer) を分離する試みは成功しなかった。しかし本実験の結果、溶原菌内のレプレッサーの  $\lambda$  DNA のオペレーターとの結合能の不活化が誘発の必須過程であり、そのような作用をもつ因子の存在が強く示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

テンプレートファージ  $\lambda$  は大腸菌に感染後、増殖して溶菌させる過程と溶原化して菌の染色体に組み込まれてその一部として共存する過程とのいずれかをとり、 $\lambda$  ファージ溶原菌に紫外線照射したりマイトマイシン C 処理するとファージの増殖が誘発される。溶原状態では  $\lambda$  ファージのゲノムはレプレッサー (CIタンパク) によってその発現を抑えられている。従って誘発処理によって結果的にはレプレッサーの不活化がおこりファージゲノムが発現されてファージの増殖がおこると考えられている。しかし、ファージの誘発機構に関する具体的、直接的知見は非常に乏しい。品川君のこの研究は、この機構の解明を目的とするものである。

本論文の第 I 部では誘発の際のレプレッサーの不活化に宿主菌のどのような機能が関与しているかを遺伝学的に解析するために新しい変異株を分離することを試み C72 という既知の誘発欠損菌とは異なった性質をもつ変異株の分離に成功した。この変異株は種々の実験結果から紫外線およびマイトマイシン C に感受性でなく遺伝子組換えが正常である点では既知の誘発欠損菌と異なるユニークな変異株であることが明らかにされた。

本論文での第Ⅱ部では第Ⅰ部でえられた誘発欠損菌（C72とrec4）と野生菌を用いてマイトマイシン処理後の菌体内でのレプレッサーの変化の性質を調べ誘発機構を明らかにすることが試みられた。方法としてはマイトマイシン処理した溶原菌の粗抽出液を作り、その中の $\lambda$  DNA のオペレーター部域との特異的結合能によってレプレッサー活性を測定した。その結果、誘発可能な溶原菌においては誘発処理によってレプレッサー活性レベルは減少するが、誘発欠損菌では同じ処理によっても減少しないことが明らかになった。以上の実験結果から溶原菌内のレプレッサーの $\lambda$  DNA のオペレーターとの結合能の消失が誘発の必須過程であり、そのような作用をする因子の存在が強く示唆された。

品川君のこの論文は誘発機構の解明の点から分子遺伝学の分野に重要な知見を与えるものであり、理学博士の学位論文として十分価値あると認める。