

Title	INACTIVATION OF CHROMOSOMAL FRAGMENTS TRANSFERRED FROM Hfr STRAINS
Author(s)	Itoh, Tateo
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/265
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【4】

氏名・(本籍)	伊藤建夫
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 2460 号
学位授与の日付	昭和47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	大腸菌における遺伝的組換え機構の研究 —受容菌中における伝達染色体断片の生物活性の変化—
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 神谷 宣郎 助教授 深沢 俊夫

論文内容の要旨

大腸菌における接合とそれに伴う組換えの現象は、種々の生物学的現象、たとえば細菌における種々の生合成反応の調節機構の解明に極めて有用な手段を提供してきた。一方、この接合および組換えの現象自体も生物学上の基本的問題として研究が進められてきた。

接合に伴う組換え現象の一連の反応において基質の一つとなる伝達染色体断片の受容菌中における生物活性の変化については、従来の伝達染色体断片上の遺伝子に由来する酵素合成の測定による方法がいくつかの難点をもっていたため、 Rec^+ 受容菌については明確な結論が得られず、 rec^- 受容菌についても活性が減少することは明らかにされたものの、その時間的経過については不明確であった。

本研究では、溶原性ファージ・ラムダ (λ) のプロファージを標識として用いて、伝達染色体断片の生物活性の時間的な変化の有無を明らかにし、受容菌として種々の rec^- 菌を Rec^+ 菌とともに用いて、生物活性の変化の機構についても明らかにすることを試みた。

プロファージを標識として用いることは、誘発後のファージ・ゲノムの切出しが極めて短時間で起こることから上記の目的に適している。さらにファージ・ λ は温度感受性免疫物質 (cIたん白) を作る突然変異体の一つである λ cItsI-1 (λ cIts と略する) を用いたが、これは熱処理による誘発が紫外線照射やマイトマイシン処理による誘発に比べて短時間に高頻度で起こる、しかもこの突然変異体の cIたん白は 37°C まで安定であるので十分な伝達頻度の得られる温度で接合を行なわせることができるという利点をもつ。接合における供与菌にファージ・ λ の h 突然変異体を溶原化させ、受容菌にファージ・ λ の野生型のを溶原化させる。接合の後、誘発によって供与菌から伝達された染色体断片に由来するファージ・ λ の h 突然変異体を生産した受容菌の数を測定することによって、伝達染色体断片の受容菌中における生物活性を知り得る。

その結果、供与菌が Hfr 型である場合、① $rec A$ 受容菌中では伝達染色体断片の生物活性が極めて

急速に低下する。しかもその失活は染色体伝達中断後に起こる。②recB、recC、recBrecC、recA recB および recArecC 受容菌中では緩かな失活が起こる。③Rec⁺ 受容菌中でも緩かな失活が起こることが明らかとなった。また供与菌がF'型である場合には、そのような失活がいずれの受容菌中에서도起こらないことも明らかとなった。

recA 受容菌中での伝達染色体断片の急速な失活は、recB、recC 生産物によって引き起こされるものであり、Rec⁺ 受容菌中ではその失活が recA 生産物により抑制されていると解釈される。recA 遺伝子と recB および recC 遺伝子との関係は、紫外線による菌体DNA崩壊やファージ・λの fec 突然変異体の増殖維持の場合と極めて類似しており、recB、recC 遺伝子によって支配されるATP依存性DNase活性に対するrecA遺伝子生産物（その実体は不明）の抑制効果を示す一つの例となる。recA 受容菌中での急速な失活が伝達中断後に起こることから、この失活と伝達染色体断片の機械的切断端の構造との関係が考えられる。Rec⁺ 受容菌中에서도緩かな失活が起こることは、従来の組換え体形成・分離の時間的経過を調べた実験結果と矛盾せず、また従来から接合においてはファージによる形質導入の系において見られるような線型遺伝現象が知られていなかったことに対する十分な説明を与えるものと考えられる。

本論文では、recA 受容菌以外の受容菌中での緩かな失活の実体、種々の外来性のDNAの菌体内での維持・失活とrec遺伝子との関係などについても考察を加えた。

論文の審査結果の要旨

大腸菌の接合による染色体の移行後における組換え現象の解析において、伝達された染色体断片上の遺伝子の発現を酵素合成から測定する従来の方法はいくつかの欠点をもっていたため、その生物活性の変化について不明確な点が多くあった。

伊藤君のこの研究においては伝達された染色体断片の受容菌中での生物活性の変化をみる標識としてラムダ(λ)のプロファージを用い、さらに受容菌もラムダの溶原菌にして移行してきたラムダプロファージの接合誘発が起らないよう工夫され、更に供与菌・受容菌のラムダプロファージ共に温度感受性の免疫物質を作る突然変異λcIts-1にしてあるために熱処理によって短時間で効果的な誘発を引き起こすことが可能である。従って供与菌のプロファージと受容菌のプロファージをcI以外の遺伝的マーカーで区別できるようなものを適当に選ぶことによって、接合後時間を追って染色体伝達を中断させ、然る後に熱誘発によって伝達された染色体断片に由来するプロファージの数を測定して断片の生物活性を正確に知ることができる。

この優れた実験系を用い、供与菌・受容菌に種々の突然変異株を用いることにより以下に述べるような結果を得た。

- (1) 受容菌として recA を使うと伝達された染色体断片の急速な分解が起こる。
- (2) recB、recC、recBrecC、recArecC などの受容菌中では緩やかな失活が起こる。

- (3) rec^+ 受容菌中でも緩かな失活が起こる。
- (4) 伝達された染色体断片の分解は伝達を中断した直後にはじまる。
- (5) Hfr 供与菌から移行した染色体断片は上述のように分解を起こすけれども、F'染色体は $recA$ 受容菌中でも分解されない。

以上の事実はF'染色体は環状に閉じているため分解が起こらないが、Hfr 供与菌から移行した染色体は伝達中断後、切断の起こった側から $recB$ 、 $recC$ 遺伝子に支配されている ATP 依存性の DNaseI によって分解がはじまり、組換えが起こるより先に分解された場合には生物活性を失うという結果になると解釈される。

同君の研究は上述した通り実験系が従来の大腸菌の接合系に前例のない独創的なもので、正確な結果が得られたわけであり、 rec 突然変異についての従来の見解を再確認すると共に、伝達された染色体の構造が環状か線状かによりその安定性が決まるなどを明らかにした。

よって本論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。