

Title	Replication of Bacteriophage Lambda DNA
Author(s)	Tsurimoto, Toshiki
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27704
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【7】

氏名・(本籍)	つり 釣	もと 本	とし 敏	き 樹
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	5968	号	
学位授与の日付	昭和58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	バクテリオファージ・ラムダのDNA複製			
論文審査委員	(主査) 教授	松原 謙一		
	(副査) 教授	小川 英行	助教授	伊藤 建夫

論文内容の要旨

大腸菌を宿主とするバクテリオファージλのDNA複製は、ほとんどの機能を大腸菌の複製系に依存している。しかしλの複製開始を調節する機構は、λのゲノム上にコードされた正の調節因子、O及びPタンパクに完全に依存している。このことでλファージは大腸菌の複製機能に依存しながら自律的な調節下で複製することが可能である。本研究はこのλファージの自律的複製のしくみを分子レベルで明らかにし、大腸菌染色体を含む一般の複製単位の複製開始の機構を分析することを目的として行なった。

まず正の調節因子、O、Pタンパクを精製するため、これらを大量生産する系を遺伝子操作によって作った。これによってそれぞれのタンパクの含有量が λ 大腸菌タンパクの2~3%に達するようになった。この大腸菌からO、Pタンパクを抽出し、カラムクロマトグラフィーで均一な標品まで精製した。このアミノ酸組成、アミノ酸配列の決定により、λファージの塩基配列上の、O、P遺伝子の位置が正確に決められた。

精製したO、Pタンパクの性質を解析して次の点が明らかとなった。

- (1) Oタンパクはλの複製起点 (origin) に特異的に結合する。
- (2) Oタンパクの結合部位はoriginの中でも特に19塩基対から成る4回の反復配列であった。その結合には順序があって、最初、内側の2個に結合し、Oタンパクの濃度が増加すると外側の2個にも結合する。
- (3) Pタンパクは大腸菌複製タンパクの一つであるdnaBタンパクと相互作用する。しかしOタンパクとは強い相互作用を見出すことはできなかった。

さらに λ の複製におけるO, Pタンパクの機能を試験管内で解析するため, すでに開発されている大腸菌染色体複製起点の試験管内複製系に精製したO, Pタンパクを加えた。その結果この反応系が λ の複製を開始させる系となることが分った。この反応系では鑄型DNAの80%以上が30分以内に半保存的に一回複製した。またタンパク合成は必要としないが, DNA-gyrase, RNA-polymeraseが必須であった。ただしRNA-polymeraseに依存するのは反応の初期だけで以後必要としなかった。

λ の複製を開始する領域, 複製開始に必要な領域をこの試験管内複製系で解析した。その結果, どちらもOタンパクが結合する構造の近く, 約300塩基対の範囲に限定できた。

論文の審査結果の要旨

大腸菌を宿主とするバクテリオファージ λ は, DNA複製の基本的な調節機構を備えており, 長年その解析に多くの努力が払われてきた。しかし λ ファージの複製の調節因子, O, Pタンパクは精製が困難なため, その調節のしくみを生化学的に研究することは, ほとんど行なわれていなかった。

本研究では, これら2つのタンパクが同時に大量生産される系を開発し, 容易に純粋なO, Pタンパクを得ることを可能にした。この結果, Oタンパクは複製起点にある特殊構造に特異的に結合すること, Pタンパクは大腸菌の複製酵素の一つと相互作用することを明らかにした。さらに精製されたO, Pタンパクを用いて試験管内で λ ファージのDNA複製を行なわせることに成功した。以上の研究の結果, λ ファージの複製起点にある4個の19塩基対から成る反復構造がOタンパクの結合部位であり, DNA複製に必要な領域, およびDNA複製の開始する領域のいずれもがこのOタンパク結合部位を含む約300塩基対の範囲にあることが示されるなどDNA複製に関して多くの重要な知見をもたらした, 理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。