

Title	大腸菌におけるラムダ ( $\lambda$ ) ファージの増殖機構 I・II [英文]
Author(s)	尾辻, 望
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/28262">http://hdl.handle.net/11094/28262</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【 7 】

氏名・(本籍)	尾 辻 望 お つじ のぞむ
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 155 号
学位授与の日付	昭 和 36 年 3 月 23 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	大腸菌におけるラムダ ( $\lambda$ ) ファージの増殖機構 I・II [英文]
論文審査委員	(主 査) 教授 吉川 秀男 (副 査) 教授 奥貫 一男 教授 神谷 宣郎

論 文 内 容 の 要 旨

Studies on the Mechanism of Multiplication of Lambda Phage in *Escherichia coli*.

I. Induction of Development of Lambda Phage by Mitomycin C.

II. DNA Synthesis and lambda Phage Development in *Escherichia coli*.

大腸菌におけるラムダ ( $\lambda$ ) ファージの増殖機構

I マイトマシンのCによるラムダ ( $\lambda$ ) ファージの増殖誘導。

II 大腸菌における DNA合成とラムダ ( $\lambda$ ) ファージの増殖。

ラムダ ( $\lambda$ ) ファージの遺伝学的解析は形質導入、組み換え現象を利用して詳細におこなわれ、その遺伝的性質はかなり明らかにされてきた。しかし、 $\lambda$ ファージが宿主の染色体に附着して溶原化される過程、染色体から遊離して増殖へと切りかえられる機構、細胞内での増殖機構などについての生化学的な研究は比較的少く、殆んど不明のまま、取り残されている。そこでこれらの問題を解く手がかりとして、宿主のDNA合成をチミン欠乏状態、あるいはマイトマイシン・C (MC) で処理することなどによって阻害し、 $\lambda$ ファージの増殖を調べることにした。

[ I ] a) *E. coli* K12の野生株と MC を振とう培養すると、ある特定の濃度で溶菌するが、*E. coli* B や *E. coli* K12・W1485はどのような濃度の MC と振とうしても溶菌しない。この *E. coli* K12 野生株の溶菌は MC により $\lambda$ ファージの増殖が誘発されるためであることがわかった。野生株を MC で処理して増殖誘導した後のファージの増殖様式 (潜伏期、放出量) は紫外線 (UV) で増殖誘導したときのそれと一致する。

b) 従来、UVでファージの増殖を誘導するとき、UV 照射前後の菌の生理条件が関与するが、UV照射時の条件は影響しないことが明らかにされている。ところが、MCで増殖誘導するときは誘導時のエネルギー代謝と密接な関係があり、炭素原を除いた合成培地にグルコースを加えると増殖誘導が阻害され、こ

の阻害は DNP, KCN で恢復する。蛋白合成を阻害しても影響はない。このことはエネルギー原が供給されているときには MC の作用が不活化されると考えられる。

〔Ⅱ〕a) このようにして UV あるいは MC で $\lambda$ ファージの増殖を誘導すると、T系ファージで知られているように、DNA 合成に必要な蛋白が新生されることが明らかになった。チミン要求株をUV照射して $\lambda$ ファージの増殖を誘導し、チミンの存在しない培地で振とうすると DNA 合成およびファージの増殖はおこらない。チミンの存在しない培地で菌を振とうした後、チミンを加えると、ただちに DNA およびファージの合成が始まる。一方、メチオニン要求株を UV 照射し、一定時間飢餓状態にした後にメチオニンを加えたときは、飢餓状態にした時間に対応して、DNA およびファージの合成がおくられて開始される。その他、クロラムフェニコールを用いた実験から、ファージの DNA 合成に先行して蛋白が合成されねばならないことが明らかになった。

b) UV でファージの増殖を誘導した後、宿主のDNA合成を阻害する濃度の MC の存在する培地中で振とうしても、DNA およびファージは合成される。以上の結果から、UV を照射して $\lambda$ ファージの増殖を誘導したとき蛋白が新生されるが、その場合、チミン合成に関与する酵素は形成されず、MC によって阻害を受けにくい DNA 合成酵素系が形成されると考えられる。

### 論文の審査結果の要旨

大腸菌 K12にはラムダ ( $\lambda$ , Lambda) とよばれるファージがあり、普段は大腸菌の染色体の一部に紐込まれて大腸菌の染色体分裂と共にファージのそれも分裂し、あたかも大腸菌の成分のような行動をとっている。このような状態にあるファージをプロファージ (Prophage) とよんでいる。しかし紫外線で大腸菌を処理するとラムダファージは大腸菌の染色体から遊離して増殖しはじめ、やがて菌を溶かして多数の子ファージを生産する。尾辻君の第Ⅰ報はこのような現象を紫外線の代わりにマイトマイシン Cを用いて解析したものである。すなわちラムダファージを潜在的に保有している大腸菌 K-12の野生株を 1 $\mu$ g/ml 程度のマイトマイシンで処理すると多数の子ファージが生産される。このことはマイトマイシンが紫外線と同様プロファージの状態にあるラムダを活性化することを示している。この際炭素原を除いた合成培地にグルコースを加えるとラムダファージの増殖誘導が阻害されるが、この阻害は DNP, KCN 又は硫酸塩の添加によって回復する。しかし蛋白合成を抑制するような方法では影響を受けない。このことからグルコースのようなエネルギー原が供給されるときにはマイトマイシンの作用が不活性化されるものと思われる。

次に第Ⅱ報で同君は紫外線又はマイトマイシンでラムダファージを増殖誘導するとき、ファージのDNA合成や増殖に必要な酵素系が新生される現象をチミン要求性およびメチオニン要求性の $\lambda$ ファージを用いる巧妙な方法で証明している。すなわちチミン要求性の菌を紫外線で照射してラムダファージを活用化してもチミンがない限り DNA 合成もファージの増殖も起らない。しかし一定時間飢餓状態にした後チミンを加えるとただちに DNA およびファージの合成ははじまる。このことはチミン欠乏の場合でも DNA 合成およびファージの増殖に必要な酵素系がすでに作られていることを暗示している。しかしメチオニン要求性の菌に紫外線を照射し前と同様の条件でメチオニンを加えても更に一定時間をへなければ DNA

およびファージの合成がはじまらない。この事実は DNA やファージの合成に必要な酵素系が形成されるには一定時間を要することを示している。

なお紫外線でラムダファージを活性化した後、菌の DNA 合成を阻害するような濃度のマイトマイシンを加えても DNA 合成やファージの増殖はそのままつづけられる。このことは紫外線照射によってファージが新生する酵素系はこの薬剤に対して抵抗性のものであることを示している。しかし前述のチミンに関する実験からチミン合成の能力をもつ酵素系が新生されたことは考え難い。恐らくファージ特有の DNA 合成酵素が新生されるのであろう。

以上尾辻君の研究はファージに対するマイトマイシンの作用が紫外線のそれと極めて類似したものであることを明らかにしただけでなく、両者を組合せ或は栄養要求性の菌を利用することによって大腸菌とファージの DNA 合成に関する相違点を解明した点で微生物の遺伝生化学に寄与するところ多く、この論文は理学博士の学位論文として十分の価値あるものと認める。