

Title	乾燥によるEscherichia coliのDNA損傷に関する研究
Author(s)	浅田, 祥司
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/2850
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	浅田祥司
学位の種類	工学博士
学位記番号	第 5268 号
学位授与の日付	昭和 56 年 3 月 25 日
学位授与の要件	工学研究科 醸酵工学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	乾燥による <i>Escherichia coli</i> の DNA 損傷に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 芝崎 勲 (副査) 教授 大嶋 泰治 教授 岡田 弘輔 教授 原田 篤也

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は乾燥による *Escherichia coli* の DNA 損傷の特性および修復機構を明確化し、乾燥に起因する突然変異の誘発とその防止方法について研究した結果をまとめたものであって、緒論、本論 3 章および総括より構成されている。

緒論では従来の研究をまとめ、本研究の目的および研究方針について述べている。

第 1 章では疎水性フィルターを担体とする新しい微生物細胞の乾燥法について述べ、この方法を用いて乾燥による *E. coli* の DNA 損傷の有無とその特性について検討している。DNA 修復能欠損株とその親株の乾燥感受性の比較、アルカリ性ショ糖密度勾配遠心法により DNA の 1 本鎖切断が細胞内水分活性 (a_w) = 0.75 以上では起らないのに対し、 a_w = 0.53 以下で起ることを明らかにしている。この結果は復水培地組成、浸透圧、温度に影響されず、乾燥後の空気導入および復水時の酸素の有無にも関係しないことを見出している。さらに *E. coli* を a_w = 0.75 以下になるまで乾燥すると、凍結水だけでなく不凍水まで細胞より除去されることを走査型示差熱量計によって確めている。これらの結果より、乾燥による *E. coli* の DNA 鎖切断は細胞内の不凍水の除去が引き金となって起るとしている。

第 2 章では、第 1 章で見出している DNA 鎖切断と乾燥による突然変異誘発の関係を明らかにするため、修復機構を中心に検討している。種々の DNA 修復能欠損株の乾燥感受性の比較、アルカリ性ショ糖密度勾配遠心法による切断した DNA 鎖の再結合能の測定結果から、損傷は主として DNA 鎖切断であり、その修復は野生型 *rec* 遺伝子支配で増殖培地中でのみ起ることを見出している。一方 *argF* アンバー変異株の野生型表現型への復帰突然変異は a_w = 0.75 以上では誘発されず、 a_w = 0.53 以下になって始めて有意に誘発され、DNA 鎖切断の a_w 依存性と一致することを認めている。また野生

型rec遺伝子支配の修復能を欠く突然変異株では復帰突然変異は全く誘発しないことを確めている。

以上の結果より、乾燥による突然変異はDNA鎖切断の修復過程で生じた誤りによって誘発されるものと結論している。

第3章では、乾燥による*E. coli*のDNA鎖切断と突然変異の誘発を防止するため、保護物質の添加、低温での乾燥および低温凍結処理の効果について検討を加えている。すなわち保護物質としてmyo-inositol, monosodium glutamate, D-glucoseを1%または6%添加して乾燥しているが、DNA鎖切断の程度と変異誘発頻度に対する影響を認めてはいるが、完全に防止できないことを見出している。0℃での乾燥効果について検討しているが、常温での場合と変わらず、防止効果はないことを確めている。

一方低温凍結処理では最低温度に関係なく、DNA鎖切断および突然変異の誘発は全く認めることができないとしている。

以上の結果より、微生物菌体の保存における突然変異の誘発防止には乾燥保存よりも低温で凍結して保存するのが好ましいと結論している。

総括では本論文での研究成果をまとめている。

論文の審査結果の要旨

本論文は微生物菌株保存や食品加工技術として重要な乾燥の微生物に与える影響として、DNA損傷問題をとりあげ、乾燥による細胞死滅、突然変異誘発の原因を明らかにすることを目的とする研究結果をまとめたものであって、以下に示す新しい知見を得ている。

1. 微生物細胞を短時間に所定の水分レベルまで乾燥するため疎水性フィルターを担体とする新方式を考案している。
2. *E. coli*のDNAの1本鎖切断は水分活性 (a_w) に依存し、 $a_w=0.53$ 以下で起ること、細胞内の不凍水の除去がDNA鎖切断の引き金となることを確め、DNAに対する水分の役割を明確化している。このようなDNA切断の a_w 依存性は*Bacillus subtilis*の栄養細胞においても見出し普遍性のある現象であるとしている。
3. 乾燥によるDNA鎖切断と突然変異誘発との関連性を検討し、乾燥によるDNA鎖切断の修復過程で生じた誤りが突然変異の誘発を引き起すものとしている。
4. 数種の保護物質はDNA切断と突然変異の誘発を完全に防止できないこと、低温凍結処理において凍結温度に係らず切断、変異誘発の起らないことを確めている。

以上の研究成果は、醸酵ならびに関連分野において、学術的にも工業的にも貢献するところ大なるものがある。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。