



Title	大腸菌ファージΦ80に組込まれたトリプトファン遺伝子の制御様式
Author(s)	佐藤, 弘毅
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28882
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	佐 藤 弘 毅
	さ とう こう き
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 8 8 8 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 病 理 系 学位規則第5条第1項該当
学 位 論 文 題 目	大腸菌ファージ $\phi 80$ に組込まれたトリプトファン 遺伝子の制御様式
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 藤野恒三郎 (副査) 教 授 吉川 秀男 教 授 天野 恒久

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

松代(1964)が分離した形質導入ファージは、大腸菌のトリプトファン・オペロンをオペレーターを欠いてファージ・ゲノム中に組込んでいる ($\phi 80pt_1$) が、私が新しく分離した形質導入ファージは、ファージ・ゲノム中にオペレーターを含めてオペロンが組込まれている ($\phi 80pt_0$)。これら二種類のファージにおいて、ファージ・ゲノム中に組み込まれたトリプトファン遺伝子による形質発現の制御様式がどう異なるかを比較することによって、オペレーターの働きを明らかにしようとした。

〔方法ならびに成績〕

大腸菌のトリプトファン・オペロンは、A・B・C・DおよびEシストロンとオペレーターとから構成されている。以下の実験では、アントラニル酸要求株 (E^-) とトリプトファン要求株 (B^-) を使用した。大腸菌ファージ $\phi 80$ 由来の形質導入ファージの一つ、 $\phi 80pt_0$ はDおよびEシストロンとオペレーターを運んでいるが、A・B・およびCシストロンを欠失している。他の一つの $\phi 80pt_1$ はシストロンA・B・C・およびDの一部を運んでいるが、Eおよびオペレーターを欠失している。これらのファージ、 $\phi 80$ 、 $\phi 80pt_0$ および $\phi 80pt_1$ は co-immune である。

(I)

$\phi 80 pt_0 (E^+ O^+)$ をアントラニル酸要求性大腸菌 (E^-) の $\phi 80$ -溶原株あるいは非溶原株に感染させると、トリプトファンが存在しない場合に限り、ファージが運び込んだE遺伝子はアントラニル酸合成酵素を作り、トリプトファンが存在すれば作らない。また大腸菌 R try⁻ 株(トリプトファン合成系の調節遺伝子の変異のため、抑制物質を作らない株)に $\phi 80 pt_0$ を感染させた場合には、トリプトファンの存否とは無関係に、アントラニル酸合成酵素が作られる。これらの事実から、 $\phi 80 pt_0$ で

は組み込まれたトリプトファン遺伝子の発現は、トリプトファンによって（より正確には、トリプトファンによって活性化されたある抑制物質によって）制御されると推定される。もっとも、 $\phi 80pt_0$ を $\phi 80$ -溶原菌に感染させた場合には、非溶原菌に感染させた場合とは少しく異なった結果が得られる。前者の場合には、培地中にトリプトファンが存在する抑制条件下では、酵素合成は全く見られず、トリプトファン・オペロンの発現は完全に抑制されるが、後者の場合には抑制が次第に解除される。これはおそらく細胞内でファージが増殖してそのコピーがふえたため、宿主の作る抑制物質が相対的に不足になった結果と考えられる。

(II)

$\phi 80 pt_1 (A^+B^+O^{del})$ をトリプトファン要求性大腸菌 (B^-) に感染させた場合、受容菌が非溶原株のときは、トリプトファンのあるなしに拘らず、ファージによって運び込まれたAおよびB遺伝子はトリプトファン合成酵素を作る。これに対して受容菌が $\phi 80$ -溶原株の場合には、トリプトファンに関係なく酵素合成は起らない。一般に溶原菌のプロファージは同種のファージの追加感染を阻む免疫物質を絶えず細胞質中に産生しつづけていると考えられる。溶原菌を用いた場合、このように酵素合成が起らないのは、この免疫物質によって、運び込まれたトリプトファン遺伝子の機能が発現されなくなっているためと考えられる。次の実験はこの説明を支持する。即ち、 $\phi 80$ -溶原菌をマイトマイシンで処理して免疫性をなくすようにしておいてから、 $\phi 80pt_1$ を感染させてみた。すると感染後約30分目からトリプトファン合成酵素の合成が認められた。

〔総括〕

1. $\phi 80 pt_0$ がアントラニル酸要求性大腸菌に感染した場合、アントラニル酸合成酵素の合成は培地中のトリプトファンによって制御される。
2. $\phi 80 pt_1$ がトリプトファン要求性大腸菌に感染した場合、トリプトファン合成酵素の合成は、トリプトファンの存否とは無関係であって、受容菌が非溶原株なら合成が見られ、 $\phi 80$ -溶原株なら合成は起らない。しかしマイトマイシン処理によってファージ免疫物質をなくすようにすれば、酵素合成が始まる。
3. 以上の事実から次の結論がひき出せる。トリプトファン・オペロンの一部がファージ・ゲノムに組込まれる際、 $\phi 80 pt_0$ のようにオペレーターを伴う場合には、組込まれたトリプトファン・オペロンの発現はトリプトファンによって抑制されるが、 $\phi 80 pt_1$ のようにオペレーターを欠く場合には、その発現はトリプトファンによって抑制されない。その代わり、そのオペロンはファージ免疫物質の支配を受ける。即ち、 $\phi 80 pt_1$ では、大腸菌のトリプトファン・オペロンが、ファージ・ゲノム中のあるオペロンへつながって新しいオペロンを形成し、この新しいファージ・オペロンが免疫物質によって制御されるために、上述のような現象が起るものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

細胞内における諸種の調節機構については主として大腸菌を用いて研究され、酵素合成の誘導あるいは抑制機構は Jacob-Monod のオペロン説によって明快に説明されるようになっている。大腸菌染色体上の遺伝形質が形質導入ファージのゲノム中に組込まれた場合、その形質がどのような調節を受けるようになるかという問題は、既に1960年頃から λ ファージや P1 ファージの系で研究されていたが、形質導入ファージがいずれも defective で、形質導入をしない helper phage が多量に混在しているため、はっきりした結論は得られていない。

この研究は、defective でない形質導入ファージ $\phi 80pt_0$ の分離に成功したことから出発して、このファージと、松代ら (1964) によって分離された $\phi 80pt_1$ とを使用して、上述の問題に対して明確な解答を与えている。

$\phi 80 pt_0$ は、大腸菌 K12 株のトリプトファン・オペロンのうち、オペレーターを含めてオペレーター側の 2 遺伝子をファージ・ゲノム中に組込んでいるが、これらの遺伝子は培地中のトリプトファンによってその発現が制御される。このことはオペロン説から理解されることである。ところが $\phi 80 pt_1$ の場合の制御様式は特異なものである。

$\phi 80 pt_1$ は、トリプトファン・オペロンのオペレーターおよびオペレーター側の 2 遺伝子を欠失して、残りの 3 遺伝子を組込んでいる。これらの遺伝子の発現がファージ免疫物質によって支配されるようになっていることが見事に示されているが、これはもともと無関係な二種類の遺伝形質が同じ制御を受けるようになったことを示す興味ある一例である。

この研究は飛躍的に発展しつつある微生物遺伝学に一つの貢献をしたものと認められる。