

|              |                                                                                   |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 紫外線によるファージ誘発の光回復スペクトルと紫外線誘発ファージ出現の遅延現象                                            |
| Author(s)    | 猪尾, 和弘                                                                            |
| Citation     |                                                                                   |
| Issue Date   |                                                                                   |
| Text Version | none                                                                              |
| URL          | <a href="http://hdl.handle.net/11094/29533">http://hdl.handle.net/11094/29533</a> |
| DOI          |                                                                                   |
| rights       |                                                                                   |
| Note         |                                                                                   |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【 1 】

|         |                                                        |
|---------|--------------------------------------------------------|
| 氏名・(本籍) | 猪 尾 和 弘<br>い お かず ひろ                                   |
| 学位の種類   | 医 学 博 士                                                |
| 学位記番号   | 第 1 3 6 6 号                                            |
| 学位授与の日付 | 昭 和 4 3 年 3 月 2 8 日                                    |
| 学位授与の要件 | 医 学 研 究 科 生 理 系<br>学位規則第 5 条第 1 項該当                    |
| 学位論文名   | 紫外線によるファージ誘発の光回復スペクトルと紫外線誘<br>発ファージ出現の遅延現象             |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教 授 近 藤 宗 平<br>(副査)<br>教 授 吉 川 秀 男 教 授 松 代 愛 三 |

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

ファージが溶原化した大腸菌を紫外線 (UV) 照射すると、ファージ誘発により溶菌が起り、菌は死ぬ。然るに extra sensitivity (致死) を殆んど示さない例を発見した。これは、溶原菌が UV 照射後に数回分裂をしてファージ放出菌と生存菌を分離する遅延模型で説明出来る。本研究の目的はこの仮説の妥当性の証明と遅延機構の解明にある。

〔方法ならびに成績〕

UV によるファージ誘発感受性が高く、しかも extra sensitivity を持たない溶原菌として、大腸菌 Bs<sub>-1</sub> (80) を、対照の溶原菌として大腸菌 W3110 (80) と H/r 30R (80) を用いた。

〔A〕遅延現象の証明

1) 顕微鏡観察による定性的証明

位相差顕微鏡に長焦点距離コンデンサーを装置し、栄養寒天培地上に UV 照射した菌をプレートし、30°C で培養し乍ら形態観察を行なった。定常期の対照菌 W3110 (80) は、D<sub>37</sub> (37% 生存率線量) の UV 照射により、約 25% が誘発される。観察した 35 例は全て分裂する事なしに溶菌した。他方、定常期の Bs<sub>-1</sub> (80) は D<sub>37</sub> の UV 照射で約 40% が誘発される。観察した 75 例中、49 例は一回以上の細胞分裂後に溶菌現象が起った。同一クローンの娘細胞の 2 個以上が溶菌する例も見られた。同一クローンの中で溶菌と共存する非溶菌が時間と共に細胞分裂を続け、micro colony になる例を確認した。

2) カイネテックスによる定量的証明

UV 照射をうけた溶原菌で将来ファージを放出し、感染中心となるものは

〔S〕：子孫の中に生存菌を生じるもの

〔L〕：子孫の中に生存菌を生じないもの

に2分される。今、問題にする〔S〕が、誘発された溶原菌全体の中でしめる割合を知る為に、〔S〕と〔L〕を実験的に区別する方法を考案した。フェージ指示菌として栄養要求性株を使い半栄養培地上にプレートした。この条件下では、〔S〕は中心に生存菌コロニーを有するプラークとして検出され、〔L〕は透明プラークとして区別される。〔S〕と〔L〕の和は、従来の標準法である栄養培地上のプラーク数と、殆んど一致した。誘発された感染中心の中で〔S〕のしめる割合を、照射線量が生存率 $10^{-7}$ になる迄の間、7～9線量に別けて調べ、各線量毎に自然誘発菌に対する補正を行なった。

対照菌 H/r 30R (80) は、定常期に、至適誘発線量  $400\text{erg}/\text{mm}^2$  を照射する場合、〔S〕は〔L〕+〔S〕の最大10%をしめるに過ぎない。他方  $\text{Bs}_{-1}$  (80) は、至適線量  $2.0\text{erg}/\text{mm}^2$  照射の場合、〔S〕は少なくとも30%で、フェージ誘発率の低い所では〔S〕の割合はもっと増加する。例えば  $\text{Bs}_{-1}$  (80) に  $1.0\text{erg}/\text{mm}^2$  照射の時、〔S〕は約75%になる。

#### 〔B〕フェージ誘発遅延の機構

##### 1) 紫外線誘発の原因

紫外線によるフェージ誘発の主因は、致死の場合と同様、DNA上の相隣る Pyrimidine が dimer 化したためである事を光回復スペクトルにより確認した。

##### 2) 紫外線誘発過程の模型

現在、次の模型が有力である。ダイマーによる宿主DNAの機能の障害は、蛋白質合成可能条件下で未知物質Xの産生を導き、Xによりフェージ増殖抑制物質(免疫物質)の不活性化が起りフェージ産生へ導く。

##### 3) フェージ誘発遅延機構の模型

ダイマー除去能を欠くUV高感受性  $\text{Bs}_{-1}$  (80) では、微量のUV照射でフェージが誘発され、かなりのものが遅延誘発となる。この場合はダイマーの数が少ないので未知物質Xの生成も少なく、免疫物質の不活性化に時間がかかり、細胞分裂の方が先行する確率が高くなる。ダイマー除去能を持つ正常株 H/r 30R (80) や W3110 (80) では至適フェージ誘発線量が高いのでXの産生が高く、免疫物質の不活性化は、細胞分裂が起らぬうちに完了する。

##### 4) 免疫物質消失と細胞分裂の時期

溶原菌  $\text{Bs}_{-1}$  (80) の免疫物質活性の消失の時期を別の変異フェージ  $\phi 80\text{hc}$  に対する感染性の出現時期によって検出する。 $\phi 80\text{hc}$  を照射溶原菌に経時的に重感染させ、 $\phi 80$  に抵抗性で  $\phi 80\text{hc}$  に感受性の指示菌 B/T<sub>1</sub> と共にプレートし、 $\phi 80\text{hc}$  によるプラークのみを観測した。

$\text{Bs}_{-1}$  (80) に  $3.0\text{erg}/\text{mm}^2$  (宿主菌10%生存率線量) を照射した場合、UV照射後、栄養培地で約130分培養した時、免疫物質の消失が起った。同上の条件下で生存菌の倍加時期は約90分後であった。これらの結果から、免疫物質が失活し、フェージ産生が開始するに先立って、菌体の分裂増殖が少なくとも平均一回起っている事が確認された。

##### 5) E. coli K12 HCR<sup>-</sup> をλフェージで溶原化した時も上述したのと似た現象が存在する。

## 〔C〕 結 論

ファージ出現の遅延現象の証明と、提案した模型によれば、免疫物質が豊富な状態（例えば定常期）で、且つ、低線量UVで起るファージ誘発は、一般に遅延誘発を多分に含むと言う結論になる。増殖期のUV抵抗性株では、上述の条件が満たされていないので遅延現象は起り難いため、溶原菌の extra sensitivity が顕著になる。従来のファージ誘発実験は一般にこの様な場合におけるものである。

## 〔総 括〕

- (1) 紫外線ファージ誘発の主因は、溶原菌DNA上に生じた Pyrimidine dimer である。
- (2) 溶原菌のUV照射後の分裂により、誘発ファージの出現は、遅延する場合がある。又、ファージ出現の遅延する条件下では生存菌の分離してくる事がある。
- (3) 免疫物質対UV線量の比が大なる条件の時、免疫物質の失活が遅れ、ファージ誘発遅延が起る。

## 論 文 の 審 査 結 果 の 要 旨

宿主大腸菌染色体に組み込まれたファージは、紫外線照射することにより宿主染色体より独立し、自己増殖し宿主を溶かしてファージ粒子として出現する。この際のファージ誘発の物理化学的原因は主として紫外線により、宿主菌のDNA上に生じるピリミジンダイマーであることを証明した。つぎに、紫外線障害を修復する能力を欠く特性の大腸菌株に組み込まれたファージの誘発の出現はUV照射後、宿主菌が数代分裂してはじめて起るのがふつうであることを発見した。このような誘発遅れを殆んど生じない普通の大腸菌の場合との比較により遅れ出現の原因をほぼ明らかにすることが出来た。この両者とも新しい発見であってその証拠となる実験データも十分で、且つ、研究の進め方および論旨も明確であった。