The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	大腸菌組換能欠損株のDNAの紫外線照射による分解の分子機構
Author(s)	堀井, 善一郎
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29675
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

【30】

氏名・(本籍)	堀　井　善一郎（ほり い ぜんいちろう）
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　1649　号
学位授与の日付	昭和44年3月28日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**大腸菌組換能欠損株のDNAの紫外線照射による分解の分子機構**
論文審査委員	(主査) 教授 近藤　宗平 (副査) 教授 松代　愛三　教授 次田　晧

論文内容の要旨

〔目　　的〕

大腸菌（*E. coli*）の組換不能変異株（*rec*⁻）は遺伝子群に分類して，A，B，Cの3群がある。これらはいずれも放射線に高感受性を示すが，なかでもA群（*rec A*）は紫外線（UV）照射ののちにデオキシリボ核酸（DNA）の急速な分解が起るという特有の性質をもつ。本研究は，このDNA分解の機構を明らかにすることによって *rec A* 株の UV 高感受性の原因を追求することを目的とする。さらにそれによって UV 抵抗性野生株の UV 障害回復機構における *rec*⁺ 遺伝子の役割を明らかにすることを目標としている。

〔方法ならび成績〕

材料として，*E. coli* K12 *rec A* 株と *E. coli* K12 *rec A uvr A* 株の2系統を用いた。両者ともコロニー形成能については UV に対し高感受性を示し，*rec A uvr A* 株は *rec A* 株よりも感受性が高い。前者は UV 照射ファージを菌体に感染させた場合その UV 障害を修復する能力（宿主細胞回復）を保持している。後者は *rec A* に加えて宿主細胞回復遺伝子の一つ（*uvr A*）に欠陥を生じている2重変異株である。

〔I〕*rec A*株の UV 感受性と UV 照射後の DNA 分解量との成長期（対数増殖期）と定常期での差違：

rec A 株は低線量 UV 照射での感受性が，野生株にくらべて，成長期と定常期とで著じるしく変動する（成長期の方が感受性が高い）。これと平行して，この菌の染色体 DNA の分解速度も成長期照射の方が著じるしく大きい。成長期の細胞を要求性アミノ酸のないきが状態で培養し，染色体の複製過程を終点まで到達させ菌の染色体が全然複製点を持たない状態にすると，コロニー形成能および DNA 分解の UV 感受性は減少し定常期のものに近づく。次に，この細胞を UV 照射後も緩衝液中

に浮遊させ続け，DNA が複製されない状態を保持すると，その DNA はほとんど分解されずに残る。また，このような処理をした後に栄養寒天培地にまくと，UV 照射後直ちに同じ培地にまいた菌よりも，コロニー形成数が増加している。すなわち，この期間に液体保持回復効果を示す。次に UV 照射後に可視光線を照射すると光回復により生存率が上昇するとともにその DNA 分解の感受性も低下する。そして，光回復の効率は定常期及びアミノ酸きが状態の方が成長期の菌よりも大きい。他方，***rec A uvr A*** 株では UV 照射後の DNA 分解は少ししか起らず成長期と定常期での UV に対する感受性（コロニー形成能）の差違はみとめられない。

〔Ⅱ〕UV 照射 ***rec A*** 株の染色体 DNA の分解：

成長期の ***rec A*** 株（チミン要求性）を用いて a, b 2群を次のように処理する。a群は ^{3}H チミジンで30秒間 30°C でパルスラベルを行ない，DNA の複製点近傍の DNA 部位をラベルする。b群は2分間 37°C で同様なパルスラベルを行なった後，要求性チミン濃度の 10^3 倍の非放射性チミジンを含む液体培地で12分間培養して，複製点からはずれた DNA 部位をラベルする。それぞれを UV 照射後，暗中で液体培養し，一定時間毎に試料を集め5％トリクロル酢酸沈澱分画におけるアイソトープ量の変動を調べて，DNA の2つの部位での分解を比較した。***rec A*** 株では(a)の方が先に分解をはじめ，(b)はそれより遅れて分解する。また，(a)の分解開始までの期間は UV 照射線量に逆比例し，光回復の処理によりこの期間が大きく延ばされる。しかし，***rec A uvr A*** 株では，(a)の部位は上と同じ様式で分解するが，(b)の方は分解しない。

〔Ⅲ〕論議と結論：

UV 照射 ***rec A*** 株の DNA の異常分解は，DNA 複製と DNA 障害の修復の両作業が同時に進行している点で生じるものである。このことが ***rec A*** 株の UV 障害の回復の充分行なわれない原因となっている。パルスラベル実験によって，DNA の分解は複製点から開始されることが示された。光回復実験の結果は複製点近傍にできたピリミジンダイマーが DNA 分解の主因であることを示している。

〔総　　括〕

(1) ***rec A*** 変異は，UV 照射菌の DNA の複製点での分解を引き起すが，これは宿主細胞回復能の有無と無関係である。すなわち，この上に ***uvr A*** 変異が生じても，この分解は防止されない。

(2) ***rec A*** 変異により，DNA の複製点での分解はその DNA の他の部位にまで拡大するが，これは ***uvr A*** 変異が加わると防止される。

(3) ***rec A*** 変異株で要求性アミノ酸きが状態にして，DNA の複製点のない状態を UV 照射後も保持すると，DNA は安定であり，***rec*** 遺伝子とは関係のない暗回復が進行する。

(4) ***rec A*** 変異株の UV 照射による DNA 分解の主な原因はピリミジンダイマーである。

論文の審査結果の要旨

大腸菌が紫外線で死ぬのは DNA 上に生じたピリミヂンダイマーであることはわかっていたが，これがなぜ死へ導くかはわかっていなかった。堀井は本論文において，ダイマーで死にやすい組換能欠

損株を用いて，DNA が紫外線照射後いかに分解するかを分子レベルで追跡し，この謎をといたので，価値がみとめられる。