



Title	枯草菌フアージSPOIの遺伝学的研究
Author(s)	柳田, 藤吉
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/30307">https://hdl.handle.net/11094/30307</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> 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)	柳 <sup>やなぎ</sup> 田 <sup>だ</sup> 藤 <sup>とう</sup> 吉 <sup>きち</sup>
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 2123 号
学位授与の日付	昭和45年9月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	枯草菌ファージSPO1の遺伝学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 秀男  (副査) 教授 松代 愛三 教授 猪木 正三

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

枯草菌ファージSPO1はそのDNAにおいてthymineのかわりにhydroxymethyluracilをもつファージの1つである。このファージから精製したDNAはそれだけで細菌に感染するという特徴をもっている(transfection)。

一方、ファージが細菌に感染すると、早期蛋白の合成に始まり、DNA合成、後期蛋白の合成と規則正しく反応が進行する。大腸菌ファージなどではこれらの反応に関与する遺伝子が群をなして染色体上の特定部位に位置していることが知られている。そこでファージ染色体の構造、すなわち、DNAの分子構造がこれらの反応の調節になんらかの役目をもっていることが考えられる。そしてこの種の研究にはtransfectionの系が有効であろう。ここでは抑制遺伝子感受性突然変異(以下 sus突然変異と略す)を利用してSPO1ファージの遺伝子分析を行い、それによってDNAの構造とファージ増殖における調節機構の研究に役立てることを目的とした。

### 〔方法ならびに成績〕

#### 1) 抑制遺伝子感受性突然変異の分離と分類

著者は先に枯草菌HA101株から抑制遺伝子をもつ株、HA101-Bを分離したが、この株を用いて、SPO1の sus突然変異を約60個分離した。sus突然変異とはHA101株では増殖できないが、HA101-B株では増殖できる突然変異である。つぎに遺伝的相補現象を用いて60個のsus突然変異を24個のcistronにグループ分けをすることができた。

#### 2) 交配による遺伝子地図の作成

24のcistron groupから代表の突然変異をえらび、任意の組合せによって交配を行い、組換え頻度(RF)を測定した。RFの大小の順にしたがって24個の突然変異をならべてみると、23個の突然変異は一つ

の直線上に配列することが可能であった。隣接間のRFの総和は49% (Recombination unit)である。さらに2重突然変異を用いて3 point crossを行い、23個のcistronの配列順序を確めた。しかしsus49だけは他の23個のどの突然変異との交配でも25~50%という高いRF値が得られ、位置づけができなかった。

同一cistronに属する突然変異の交配から1遺伝子の大きさが推定できる。交配の結果、9個のcistronの平均の大きさは0.55unit (0.9~0.13)であることがわかった。上述のように染色体の総unitは49であるから約100個(49/0.55)の遺伝子が染色体に配列しているものと推定される。

### 3) ファージ遺伝子の機能

ファージが細菌に感染すると、まずDNAPolymeraseなどDNA合成に必要ないろいろな酵素や蛋白(これらを早期蛋白と総称する)を合成する。これらの早期蛋白の合成ができない突然変異ならば当然DNA合成ができない。sus突然変異をHA101株に感染させ、DNA合成の有無をみることによって機能面からsus突然変異を大別できる。すなわち、①早期突然変異—早期蛋白の合成が異常で、DNA合成が停止するもの、②後期突然変異—DNA合成は進行するが、それ以後の後期蛋白(リゾチーム、外殻蛋白など)の合成が異常なものである。HA101株にsus突然変異を感染させ、DNA合成をDiphenylamine法で測定し、DNA合成ができないsus突然変異を10株分離した。そのうち完全にDNA合成のnegativeな7株は染色体上に群をなして位置していた。

つぎに後期突然変異感染菌から抽出液をつくり、後期蛋白質の1つであるリゾチーム活性を検査した。その結果、F<sub>4</sub>F<sub>14</sub>の2つの突然変異ではリゾチーム活性がなかった。しかし人工的に溶菌をおこさせても成熟ファージが遊離してこないで、リゾチームの構造遺伝子とは考えられず、また電子顕微鏡による観察でもF<sub>4</sub>およびF<sub>14</sub>は頭部も尾部も形成されないことがわかったので、この両突然変異はすべての後期蛋白の合成が欠失しているものと考えられる。つまり早期蛋白の合成ののち、後期蛋白の合成を開始させる調節機構が異常なのであろう。この両突然変異の染色体上の位置が早期突然変異群に隣接していることは、ファージ増殖における染色体構造の役目を研究する上で興味深い所見である。

### 〔総括〕

1) 枯草菌ファージSPO1の野生型から抑制遺伝子感受性突然変異を約60個分離し、24個のcistronに分類した。

2) 交配の結果、23個のcistronを一つの直線上に配列することができた。ただsus49のみは例外であった。

3) 遺伝子の機能の研究からDNA合成に関与する遺伝子、後期蛋白合成に関与する遺伝子がそれぞれ群をなして染色体上にならんでいることを見出した。また早期蛋白合成から後期蛋白合成にきりかえる調節機構の異常突然変異が早期突然変異に隣接して位置していることも判明した。

## 論文の審査結果の要旨

柳田君の論文は枯草菌においてある抑制遺伝子(su<sup>+</sup>)をもつ株には増殖できるが、それをもたない株(su<sup>-</sup>)には増殖できないSPO1ファージの突然変異を60ヶ分離し、その詳細な解析を行ったものである。これら60ヶのsus (suppressor-sensitive) 突然変異を遺伝的相補性現象を利用して分析したところ結局24種のシストロン(遺伝子)に分類することができた。そこでこれらのシストロンからそれぞれ代表的な突然変異をえらび、2点交配法、或は3点交配法によってシストロン間の巨離を測定してみると一つのシストロンを除き残りの23種はファージの染色体上に一直線にならび、その全長は約49 unitであった。一方一つのシストロンに属するちがった突然変異を用い、1シストロンの平均の長さを測定してみると約0.55unitという値が得られた。そこで49を0.55でわった数、すなわち約100種のシストロンがSPO1の染色体上にあるという結果が得られた、

同君はさらにこれらシストロンの作用を調べるためにDNAを合成できないもの、或はhead、tail、Lysozymeなどの後期蛋白を合成できないものを生化学的に調査した結果、DNA合成に関与するシストロンはほとんど染色体の左側に群をなして存在し、後期蛋白の合成に関与するシストロンは右側に集合していることを見出した。しかし最も興味深い現象はDNAは合成できるが、後期蛋白は合成できない2種の突然変異で、これらは何れも染色体の最も左端に存在していた、その作用はおそらく後期蛋白の合成を開始させる調節機構に異常を生じたものと考えられる。

以上柳田君の論文はまだ解析不十分な枯草菌のファージについて遺伝学的ならびに生化学的な多くの知見を加えたものといえよう。