



Title	紫外線照射されたλファージDNA合成の解析
Author(s)	徳永, 史生
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30676
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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)	徳	永	史	生
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	2479	号	
学位授与の日付	昭和47年3月25日			
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	紫外線照射された λ ファージDNA合成の解析			
論文審査委員	(主査) 教授	本城市次郎		
	(副査) 教授	次田	皓	助教授 野津 敬一

論文内容の要旨

細菌やウイルス等が紫外線によって失活、致死または変更することはよく知られている。また、紫外線によって、DNA分子にピリミジンダイマーができることもよく知られている。そして、ピリミジンダイマーの生成が致死や失活、さらには変異の要因でもあることを示す実験は多い。この実験は、 λ ファージの紫外線による失活の機作を、 λ ファージのDNA合成の機作との関連において解析したものである。 λ ファージのDNAは、その複製の過程でDNA分子の形態が変化すること (linear型 \rightarrow circle型 \rightarrow twisted circle型) が知られており、このDNA分子の形態変化は λ DNAの複製に重要な生物学的意義をもつことはよく知られている。今回の実験で、紫外線による λ ファージ失活の主因は、むしろ、 λ DNAの形態変化が紫外線によって阻害されることにあるのではなくて、templateである親DNA鎖上のピリミジンダイマーが λ DNAの複製を阻害するためであるという結論を得た。この結論を支持する実験事実を以下にあげる。

実験材料として、紫外線によって、DNA分子に生成したピリミジンダイマー (紫外線損傷) を除去・修復できない大腸菌 K12, N3-5 (uvrB) と、溶原化しない λ hcI ファージを使用した。

(1) λ ファージの大腸菌への吸着、および、菌体内へのDNAの注入は、 λ ファージを紫外線照射しても、全く阻害されなかった。つまり、 λ ファージの紫外線による失活は、ファージの増殖過程でおこなることが分る。

(2) λ ファージを紫外線照射すると、そのDNAにピリミジンダイマーが形成される。

(3) λ ファージのDNA合成量は、ファージに与えた紫外線線量の増大にともなって減少するが、きわめて小線量でもDNA合成の低下は著しい。

(4) 紫外線照射された λ ファージを感染させた菌では、親 λ DNAの鎖長に比べて短い鎖長の子 λ DNAが合成される。そして、新生 λ DNAの鎖長は、 λ ファージに与えた紫外線線量に対応して短

かく、しかも種々の鎖長のものが蓄積されることが、アルカリ蔗糖密度勾配遠心法で知られた。

(5) 紫外線照射された λ ファージ感染菌では、 λ DNAの複製が許される条件にもかかわらず、子DNAが標識される場合でも親DNAが標識されている場合でも、何れも twisted circle 型DNAに対応する分画に標識が発見されなかった。

(6) 一方、菌体内での親 λ DNAの形態変化も紫外線によって阻害をうけることが、子 λ DNAの合成がない条件(クロマイ存在下)で明確にされた。しかし、この阻害は、 λ DNAの合成阻害に比べて著しく紫外線抵抗性が高い。

(7) 親 λ DNAの twisted circle 型への移行が、紫外線により阻害をうける機作についても検討し、次の結果を得た。

(A) λ DNAの open circle 型への移行は紫外線によって全く阻害されない (in vitro 実験)。

(B) λ DNAにピリミジンダイマーが形成されるということによって、物理的にも、酵素的にも、DNA鎖に切断がおこることはない。

(C) しかしながら、紫外線照射された λ DNAは熱変性をうけ易くなっており (T_m の低下)、しかも実際に ^3H -formaldehyde のDNAへの結合量が、紫外線線量とともに増加する。このことから、ピリミジンダイマーは、 λ DNAに部分的な変性を与え、そのため、たとえ λ DNAの cohesive end 間の水素結合は可能であっても、 λ DNA鎖の端同志の covalent bond による joining が困難になるような構造に、 λ DNAの立体構造が変化するために、親 λ DNAの twisted circle 型形成阻害がおこると推論した。

論文の審査結果の要旨

この研究は λ ファージの紫外線 (UV) による失活をDNA合成と関連させて解析しようとしたものである。著者はUVによりDNA分子に生成するピリミジンダイマーを除却できない大腸菌K12, N3-5 (uvrB) と、溶原化しない λ hcI ファージを用い、まずファージの大腸菌への吸着と菌体内へのDNA注入はUVによって全く阻害されないことを明らかにした。つぎに、UV照射によりファージDNAにピリミジンダイマーが生成されることを確認し、さらにファージのDNA合成量はUV照射によって著減し、しかも線量に応じて鎖長の短いDNAが合成されることをアルカリ蔗糖密度勾配遠心法によって明らかにした。

一方、菌体内でのファージDNAの形態変化をDNA合成がない条件で追究し、open circle 型はUVの影響を受けないが、twisted circle 型への移行は阻害を受けること、ただしそれはDNA合成の阻害にくらべて著しくUV抵抗性であることを明らかにした。

著者はこれらの結果から、 λ ファージのUV失活は、主としてピリミジンダイマー生成によるDNA複製の阻害に帰せられるが、なお大線量では親DNAの部分変性により twisted circle 型形成も阻害されると考察している。

著者の研究は、分子生物学および放射線生物学に貢献する知見を与えるもので、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。