



Title	バクテリオファージ入による組み換え機構に関する研究
Author(s)	水内, 清
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30718
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)	みず 水	うち 内	きし 清
学位の種類	理	学	博 士
学位記番号	第	2 6 7 3	号
学位授与の日付	昭和 47 年 12 月 20 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	バクテリオファージ λ による組み換え機構に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教授	倉橋	潔
	(副査) 教授	松代 愛三	教授 次田 皓 助教授 深沢 俊夫

論 文 内 容 の 要 旨

バクテリオファージ λ によって生産される遺伝的組み換え機構、即ち Int、Xis 及び Red に関する三系統の実験による研究が行なわれた。

1. 三株の plaque 形成能を有する bio⁻型質導入 phage が分離され、その phage genome 保有領域について検討がなされた。その内二株 (λ pb123、 λ pb212) は int、xis、 δ 及び red 遺伝子を欠失しており、他の一株 (λ pb316) は int、xis 及び δ 遺伝子を欠失していることが明らかにされた。即ち前者は Int、Xis 及び Red を欠き、後者は Int 及び Xis を欠いている。 λ pb316 は他の二株同様 helper phage により Int が供給されない限り、bio⁻の組み換え不能菌から bio⁺の型質導入菌を生じることができなかった。この結果から Red はそれ自身では型質導入のために必要な組み換え反応を達成することができないことが示された。これら全ての λ pb は rec⁺の受容菌からは helper phage なしに bio⁺の型質入菌を生じた。これら rec⁺による型質導入菌には λ pb の genome 全体を保有する場合と保有しない場合が共に含まれていた。これらの結果から phage 由来の組み換え機構 (Red) と菌由来の組み換え機構の性質について考察が加えられた。

2. Int、Xis 及び Red がその組み換え作用を宿主染色体を含む反応におよぼすことができるかどうかという問題について Signer Beckwith (1966) の染色体可動代現象を応用して検討がなされた。接合に先立つ λ phage の感染により、rec⁻/F'gal-att λ 部分二倍体菌から F⁻菌への染色体上の遺伝子の移入が促進されることが示された。 λ int、 λ red、 λ intred、 λ xisred、 λ dg、 λ b₂、 λ b₂red 及び初期遺伝子 N、O、P、Q の抑制因子感受性変異株等の λ 変異株が染色体可動化促進作用を示すかどうかについて調べられた。 λ によって誘発される可動化は大部分 Int により、一部 Red によると考えられる。可動化が Red を欠く phage によって促進される場合 phage genome が部分二倍体菌の genome 中にとり込まねばならない。このことから Int 及び Xis は部分二倍体菌中の菌自身の att λ 同志間での組み換えを行なう

ことができないものと考えられる。

Redによって促進される可動化においてはphage genomeの宿主genome中へのとり込みは要求されない。Redは宿主染色体とepisomeの間のおそらく相同部位において組み換え作用を促進するものと推察される。調べられた初期遺伝子欠陥株の中で、N欠陥株は染色体可動化促進能を持たない。N欠陥株とInt及びRed欠陥株の間には染色体可動化能に関し相補作用のあることが示された。

3. Ptashne (1967) によって λ -repressorのために考案された λ によって支配される蛋白質の特異標識法を用いて*int*遺伝子産物の“放射化学的精製”が試みられた。 ^{14}C で標識した λ susQによって支配される蛋白質と、 ^3H で標識した λ pb316.susQによる蛋白質がそれぞれのphageで感染したuV重照射uV感受性菌を用いて調製された。それぞれの標識標品の混合抽出物とuVで誘発した λ t₁₁溶原菌をさらに λ susQsusSで重感染して得た標品とを混合した。この混合標品から出発して λ -genomeのint- δ 部位からの産物を含む二つの分画がSephadex G-200 column chromatographyと二回のDEAE-cellulose column chromatographyを通じて、 ^{14}C と ^3H の比の違いを目やすに約200位精製された。これらの分画のcountの90%以上はint- δ 部位の遺伝子の産物である。これら二つの分画の一方は*int*遺伝子の産物であり他は δ の産物であることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

遺伝的組換え (genetic recombination) の分子機構は、古くから分子遺伝学における中心課題の一つであるが、現状はいまだ解決からは程遠い。本研究は、今日、遺伝解析の最も進んでいるバクテリオファージラムダを用いて、この問題を微生物遺伝学的、ならびに生化学的両手法を用いて明らかにしようと試みたものである。

ラムダファージは近年、宿主細菌体内で宿主菌のもの(Rec系)とは独立に独自の組換え機構を新生することが知られ、増殖中のファージ染色体の相同部位間に起る古典的な組換え (Red系)の他に、プロファージの宿主菌染色体における挿入と離脱に関与するInt系及びXis系が存在することが明らかにされた。三部よりなる本論文の前二部において著者はこれらのファージ由来の組換え機構が宿主染色体の組換えに対してどのようにはたらかかを微生物遺伝学的実験によって検討し、(1)Int、及びXis系は、細菌の染色体同志の組換えには直接はたらかないが、(2)Red系は宿主染色体の相同部位間の組換えを促進し得る、(3)但し、後者は宿主由来のRec系とは異なりnon-reciprocalな様式によって行なわれる等の結論を得た。

上記の結論のうち、特に(1)は従来信じられていた「ファージ染色体の挿入と離脱がファージと宿主染色体上に共に存在する相同部位において行なわれる」という説を訂正するものである。更に第三部において、著者はInt系を構成する蛋白質の単離法を、いわゆる、二重放射能標識法を用いて検討し、おそらく*int*遺伝子の産物と思われる蛋白質分画の部分精製に成功した。

これらの知見と方法は今後、ラムダの組換え機構を解明する上に重要な手懸りを与えるもので、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。