OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	カイコの酵素的光回復の作用スペクトル
Author(s)	村岡, 知子
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31809
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

【2】

氏名・(本籍)	村岡知子
学位の種類	医学博士
学位記番号	第3655号
学位授与の日付	昭和51年4月30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	**カイコの酵素的光回復の作用スペクトル**
論文審査委員	(主査) 教授 近藤宗平 (副査) 教授 大久保舜三　教授 和田博

論文内容の要旨

〔目　的〕

1949年Kelnerは紫外線照射によって，一度死んだStreptomyces菌が，可視光線によって生きかえることを発見して大反響をよんだ。その後，E. coliその他ほとんど全ての生物種が，類似の光回復機能をもつことがわかった。Rupert（1957）らは，この光回復は，ある種の酵素の触媒によって，形質転換DNAの紫外線障害が光化学的に回復することを証明した。その後の研究により，この光回復酵素は，DNA上に紫外線によって生じたPyrimidine dimerが，可視光によって，monomerに開裂されるのを触媒することが明らかとなった（1962）。以来この光回復酵素は多数生物種から抽出され，その特性の生物種間の比較研究が行われている。酵素が触媒する光回復作用の至適波長は，それを抽出した生物種により微妙に違っていて，酵素のアミノ酸配列の相異が示唆されている。これは光回復酵素の進化の観点から極めて興味ある問題である。

本研究においては，材料が入手しやすく，遺伝的に性質のよくわかっている動物という意味で，カイコ卵の光回復酵素の存在の証明と，その特性を既知の生物種と比較することを目的とした。研究開始の当時，哺乳類では光回復は認められていなかった。筆者らのこれまでの研究により，大腸菌では光回復酵素は染色体の近くに局在していることがわかっていたので，高等動物で，細胞数がよくわかっている材料として卵をえらんで検索した。

〔方　法〕

光回復酵素の抽出法と活性検出法；

カイコの越年卵をすりつぶして，0.05Mリン酸緩衝液にて抽出し，硫安33—70%分画の透折処理液

を用いた。光回復酵素活性は，以下のようにして求めた。*Hemophilus influenzae*のSm^r（Streptomycin低抗性株）の形質転換DNAのSm^s（Streptomycin感受性株）への形質転換活性を指標とした。Sm^rDNAをあらかじめ紫外線照射により，形質転換性を低下させておいて，そのDNAと酵素の混合溶液に，可視光を照射する。このDNAをSm^s指示菌に取り込ませて，その菌のうち，Sm^rに形質を転換した菌数を，ストレプトマイシン培地上にコロニー数を調べる。この数の上昇を，照射DNA の形質転換能の回復の指標とする。

光回復作用スペクトル；

Monochromatorから各種の単波長の光線をあて，紫外線で低下した形質転換能が3倍に回復するのに要した光の量の逆数をもって，光回復作用効率の指標とする。この相対値を波長に対してプロットしたものを，光回復作用スペクトルという。

〔結果及び総括〕

カイコの光回復酵素の特性；

カイコの越年卵から抽出された酵素分画は，紫外線で不活性化した*Hemophilus influenzae* DNAと共存させて，可視光をあてると，能率よくDNAの生物活性（形質転換能）を生きかえらせる。しかも，その光による回復効率は温度が下がると著しく低下し，13℃，10分間での光回復活性は，37℃での活性の約1/10になり，37℃，pH＝7.2リン酸緩衝液において，最適活性を示した。この酵素の分子量はSephadex gelろ過法にて約42000であった。図は，光回復作用スペクトルを示す。このスペクトルの形も，分子量も，温度依存性も大腸菌の光回復酵素の特性によく似ている。しかし，細胞当りの酵素量は，ゲノム当り2000個で，大腸菌のゲノム当り10～20個という値よりはるかに多い結果を得た。

以上の種々の類似点からカイコの光回復酵素は，大腸菌などの他の生物種の光回復酵素（Homologous Enzyme）である。しかし，カイコの酵素の，光回復の作用スペクトルが，他の多くの生物種に比べて，より長波長域までのびていて，ゲノム当りの数も多いことは，カイコににおけるこの酵素の質的進化を示唆している。

論文の審査結果の要旨

ヒトの皮膚癌の主因であり，殺菌効果の原因でもあるDNAの紫外線障害ピリミジンダイマーを回復する酵素の研究である。この酵素はダイマーを認識して複合体をつくり，可視光によってモノマーへ光化学的に復帰することを触媒するもので，今しられているうちでもっとも効率の高い回復系の主役である。本論文では，この光回復酵素が動物の1つカイコに存在することを確認し，その分子量を決定し，かつ光回復光のスペクトルを決定したものである。大腸菌の光回復酵素に比べ，有効波長の巾が広く，しかも細胞当りの酵素の分子の数も多いことを証明し，カイコが量的にも質的にも大腸菌より進化したと考えてよい酵素分子をもつことの示唆を与えた。ゆえに，博士論文にふさわしい内容をもつものと判定する。

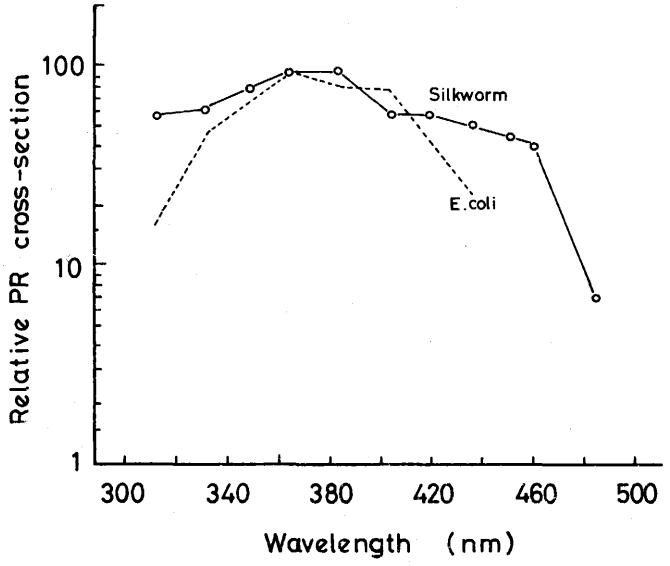

図　カイコの光回復酵素の光回復作用スペクトル；　　交雑種（春嶺×鏡月）
各波長での形質転換菌数が暗時の形質転換菌数の３倍に増加するのに要した光線量（入射光子数に換算したもの）の逆数の相対値を光回復効率とした。
参考までに大腸菌の光回復作用スペクトルを点線で示してある。