The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Φ80ファージのN遺伝子、nutL site及びtL1 terminatorの同定
Author(s)	田中, 茂生
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34641
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

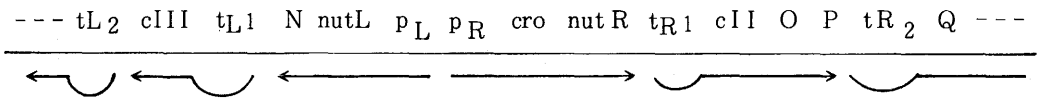
【22】

氏名・（本籍）	田中茂生（たなかしげお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6816 号
学位授与の日付	昭和60年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**φ80ファージのN遺伝子、nutL site 及び t_L1 terminator の同定**
論文審査委員	（主査） 教授 角永 武夫 （副査） 教授 松代 愛三　教授 松原 謙一

論文内容の要旨

（目　的）

φ80ファージはλ型のバクテリオファージであり，後期領域ではλファージとDNA相同性が高く，遺伝的にも相補しうるが，初期領域では相同性が低く，他のλ型ファージと異なるいくつかの独特な特徴を持つ。例えば，φ80は他のλ型ファージが増殖できない大腸菌nus変異株で増殖する。λファージがnus変異株で増殖できないという機構は次のように考えられている。λファージのほとんど全ての遺伝子は p_L, p_R という左右異なった転写方向をもつ2つのpromoterから読まれているが，所々にterminator があり，転与を終結させている。その転写終結をλファージのN蛋白が打破することにより，転与の時間的な調節を行なっている。つまり，次の図のようになる。



N蛋白がnutL, nutR site に結合すると，terminator t_L, t_R をのり越える機能が生まれる。このN蛋白の機能にλの場合は大腸菌のnus遺伝子を調べることがλ型ファージの遺伝的制御により深い知見を得られると考え，これらを同定した。

（方法と成績）

φ80初期領域のBamHI断片9.2kb内にcI immunity 領域が含まれている。その9.2kb断片をpBR322に組みこんだ組み換えプラスミドpAS02を作成した。pAS02から種々のサブクローンを作成したところ，cI 領域を失なったプラスミドのうち，cI repressor をもつφ80溶原菌には導入できるが，cI

represser をもたない大腸菌には導入できない killing effect をもつクローンを得た。この現象は cI represser の制御を受け，cI の左に位置することより，φ80の P_L 領域により引き起こされるものと考えられる。そこで，この現象を示すφ80の EcoRI−PvuII 断片 1777 bp の一次構造を決定した。このDNAの一次構造より，terminator 及び nut L site と考えられる領域をpDR 720：P_{trp} galK の trp promoter と galK 遺伝子の間に挿入し，pTL1：P_{trp} $\overrightarrow{t_L1}$ galK，pAT 21：P_{trp} $\overrightarrow{nutL}$ $\overrightarrow{t_L1}$ galK，pAT 22：P_{trp} $\overleftarrow{nutL}$ $\overrightarrow{t_L1}$ galK という組み換えプラスミドを作成した。また，N遺伝子を含むと考えられる断片を単離し，lac UV 5 promoter の下流につないだプラスミド pRN1 を作成した。これらのプラスミドを組み合わせて galK⁻の大腸菌に導入し，各々のトランスフォーマントにおいて，galK の発現を測定した。その結果，pTL1では95％以上の転写終結が見られ，pAT 21とpRN1を組み合わせた時は，pAT 21単独の場合より13.6倍強く galKが発現する抗転写終結活性を示した。そのことより，各々の断片に tL terminator，nutL site が存在し，ここに導入した遺伝子は，抗転写終結活性をもつN遺伝子であると結論できる。

（総　　括）

φ80ではN遺伝子の変異ファージは報告されておらず，従来の遺伝学的手法では，この遺伝子を同定することは困難であった。遺伝子組み換えの手法により，今回初めてφ80のN遺伝子並びに nutL site，tL_1 terminator を同定した。φ80の nutL と考えられる領域にも大腸菌の nus A 蛋白と関係するBoxA sequence と考えられる配列がみられた。このことは，φ80の抗転写終結活性で，大腸菌の nus A 蛋白の関与が示唆される。しかしながら，φ80は nus A 変異株で増殖できる。このことより，φ80ではNと nusA の相関がλのものとは異なった形で行なわれているか，nus A 以外の大腸菌の遺伝子産物がBoxAに関係し働くかもしれないと考えられる。

今回のφ80のN，nutL の同定を基礎とし，λ型ファージの抗転写終結機構の解明に近づけると考える。

論文の審査結果の要旨

ラムダファージのN蛋白による抗転写終結活性は大腸菌の Nus 蛋白と深くかかわっており，ラムダファージは大腸菌 nusA 変異株では増殖できない。しかしφ80はこの変異株で増殖できる。このことよりφ80のN遺伝子を同定することは，きわめて重要なことである。φ80のN遺伝子ならびに nutL site，tL_1 terminator の同定が本研究で初めてなされた。本研究はN蛋白による抗転写終結の機構を明らかにしていく基礎となる重要な研究であり，博士論文として価値あるものと認める。