

Title	バクテリオファージΦ80の追加感染吸着阻害遺伝子に関する研究
Author(s)	松本, 縁
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35304
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【10】

氏名・(本籍)	まつ 松	もと 本	うどり 緑
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	7 6 4 9	号
学位授与の日付	昭和 62 年 3 月 26 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	バクテリオファージ $\phi 80$ の追加感染吸着阻害遺伝子に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 吉川 寛 教授 松原 謙一		

論文内容の要旨

[目 的]

バクテリオファージ $\phi 80$ の溶原菌は追加感染する $\phi 80$ の吸着を阻害することが知られている。この現象は、 cI による immunity とは異なり、 $\phi 80$ に特異的で、他の λ 型ファージ (λ , p22, 21, 434) でこのような吸着阻害は観察されていない。 $\phi 80$ に特異的な *E. coli* への追加感染ファージの吸着阻害のメカニズムを理解するため、 $\phi 80$ 感染菌を用いて、経時的にこの現象を調べるとともに、それに関わる遺伝子の単離、同定を行った。

[方法ならびに成績]

1) $\phi 80$ 感染菌の追加感染に対する吸着阻害

溶原化と DNA 複製に変異をもつ $\phi 80$ sus326 cI_1 を、*E. coli* 594 に multiplicity of infection (m.o.i.) 5 で 30°C 、15 分間吸着させた後、未感染ファージを遠心で除き、沈澱した *E. coli* を栄養培地に懸濁振とうする。そこから経時的に菌をとり、 $\phi 80cI_1$ を m.o.i. 1 で 30°C 、7 分間追加感染させ、吸着しなかったファージ数を測定した。

結果は、感染菌においても溶原菌と同様に、追加感染ファージの吸着阻害が始まり、15 分で 50%、30-60 分で 100% の吸着阻害がおこることがわかった。

2) $\phi 80$ 追加感染吸着阻害遺伝子のクローニング

$\phi 80$ DNA を BamHI で、切断し、PBR322 にクローニングし、まずでてきたトランスフォーマントのうち $\phi 80cI_1$ に対して抵抗性を示すものを選んだ。これらの中には、 $\phi 80$ の cI と *cro* を含むものも入っているので、さらに $\text{imm}^{\lambda h^{80}}$ ハイブリッド ファージで、溶菌しないものを選んだ。この

クローンは9 kbpのインサートをもっていた。さらに、Hind III, Pvu II, Sma I等でサブクローニングしていった結果、この吸着阻害を担うと思われる遺伝子は尾部遺伝子群と att 遺伝子群の間の b 2 領域の約 1 kbp (45.4%–47.6% ϕ 80 DNA) 上に存在することがわかった。

この 1 kbp の領域の DNA 塩基配列を Maxam-Gilbert 法, Sanger 法を用いて、決定した。この中にある最大の open-reading-frame (以下 O.R.F. と略す) は 345–620 で、この前には転写開始領域として、S.D. 配列と考えられる GGAG (339–342), プロモーター部位として –10bp 上流の CATA TT (300–305), –35bp 上流の GGCGATG (276–282) がある。この O.R.F. 中にある Pvu II 部位で切断し、そこに Hind III リンカーを挿入して、フレームを乱すとこの吸着阻害の現象はなくなった。このことから、 ϕ 80 吸着阻害に関与する遺伝子は、この O.R.F. に対応すると考えられる。この O.R.F. は疎水性の 3 つのコアと親水性の部分からなる 92 アミノ酸のペプチドをコードしていて、大腸菌の膜に付着しうる構造をしている。また、シグナル ペプチドとなりうる Lys-Arg (356–361) の疎水的な部位と、Leu-Phe-Ala-Gly-Cys-Phe (368–385) の親水性の 6 アミノ酸が N 末端付近にあった。これらのことから、この遺伝子産物が E. coli の inner 又は outer membrane で ϕ 80 受容体と作用し、吸着阻害の現象をおこすと考えられる。

3) 他のファージに対する吸着阻害

E. coli は、バクテリオファージ T_5 , T_{11} , ϕ 80 に対する吸着によって TonA, TonB の 2 つの型に分けられる。この吸着阻害遺伝子によりおこる E. coli の膜変化が TonA 型 (T_5^r , T_{11}^r , $\phi 80^r$) のものか TonB 型 (T_5^s , T_{11}^s , $\phi 80^s$) のものかを調べるため、 ϕ 80 溶原菌に T_5 を感染させた。

結果は、 ϕ 80 溶原菌が T_5 ファージに耐性を示したので、TonA 型であることがわかった。

λ ファージにおいて T_{4rII} , T_{5lr} , T_{7rbl} の突然変異体に対して、 λ 溶原菌は吸着できないことが知られている。これは溶原菌が他のファージの感染による溶菌を防ぐのに役立つといわれているが、 ϕ 80 の追加感染吸着阻害の現象は T_5 ファージに対しても有効であり、 ϕ 80 が増殖するのに合目的的であると考えられる。

[総括]

- 1) ϕ 80 感染菌の追加感染に対する吸着阻害は、 ϕ 80 溶原菌と同様に起こり、初回感染後 15 分でこの遺伝子は発現される。
- 2) この遺伝子は ϕ 80 DNA の 45.4%–47.6% に存在し、92 個のアミノ酸からなるペプチドをコードする。この遺伝子産物は 3 つの疎水性のコアと親水性の部分を持ち、E. coli の膜に付着しうる構造をとる。

論文の審査結果の要旨

本研究はバクテリオファージ ϕ 80 がその感染により大腸菌に対する追加吸着が阻害することを遺伝子レベルで報告したものであり、大腸菌の膜上のレセプターとファージ由来の産物の相互作用を考えるの

に重要であると考えられる。

よって、この報告は学位に値するものとして評価できると考えられる。