The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Mycobacterium bovis BCGのリボソームRNA遺伝子の構造
Author(s)	鈴木, 定彦
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36027
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

【25】

氏名・(本籍)	鈴木定彦（すずきやすひこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8102 号
学位授与の日付	昭和63年3月25日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	***Mycobacterium bovis*** **ＢＣＧのリボソームＲＮＡ遺伝子の構造**
論文審査委員	(主査) 教授 三輪谷俊夫 (副査) 教授 山之内孝尚　教授 中田 篤男

論文内容の要旨

［目　的］

近年，日和見感染としての抗酸菌感染症が重用視されてきている。抗酸菌には，病原性を持つものから持たないものまで多種類存在する事が知られている。その様な多様性を分子生物学的レベルで比較検討する目的で，まず生物学的に基本的な役割を演じているリボソームに着目した。遺伝子組み換えの手法を用いて抗酸菌の一種である牛型結核菌（*M.bovis* ＢＣＧ）のリボソームＲＮＡ（rRNA）遺伝子の構造の解析を行った。

［方法および結果］

1）*M.bovis* ＢＣＧのrRNA遺伝子数の決定：*M.bovis* ＢＣＧより染色体ＤＮＡを抽出し，これを制限酵素の*Bam*ＨＩ，*Bgl*Ⅱ，*Hind*Ⅲ，*Pst*Ｉ，*Pvu*Ⅱおよび*Sal*Ｉで切断，アガロースゲル電気泳動により展開した後，同じ菌株のリボソームから抽出した^{32}Ｐ標識23Ｓ，16Ｓおよび5 SrRNAとハイブリダイズさせた。その結果*M.bovis* ＢＣＧにおいては1セットのrRNA遺伝子が存在する事が判明した。大腸菌あるいは枯草菌においてはrRNAをコードする遺伝子はそれぞれ7および10セット存在し，マイコプラズマや古生細菌の数種については1ないし2セットである事が報告されている。*M.bovis* ＢＣＧは，後者と同様の数少ないrRNA遺伝子をもっているといえる。

2）*M.bovis* ＢＣＧのrRNA遺伝子のクローニング；*M.bovis* ＢＣＧの染色体ＤＮＡを抽出し，SalＩ制限酵素で処理し，5－9キロ塩基対のＤＮＡ断片を大腸菌ベクター*pBR322SalＩ*切断部位に連結し大腸菌ＨＢ101株に導入した。この形質転換した大腸菌より*M.bovis* ＢＣＧのrRNA（23Ｓと16Ｓとを混合したもの）をプローブとしてコロニーハイブリダイゼイション法を行いrRNA遺伝子をもつハイブリッ

ドプラスミド*pBCG*4を得た。*pBCG*4のＤＮＡを制限酵素*Xba*Ｉ，*Sal*Ｉ，*Pst*Ｉ，*Eco*RV，*Eco*RＩ，*Bam*HＩ，および*Sal*Ｉで切断して制限酵素地図を作製した。

３）*M.bovis* ＢＣＧのrRNA遺伝子の構造解析；制限酵素地図をもとにしてサザンハイブリダイゼイション法により23Ｓ，16Ｓ，５SrRNAおよびトランスファーＲＮＡ（tRNA）遺伝子の存在する位置を決定した。さらにrRNAをプローブとしてクローンＤＮＡとの間にＲグループを形成させこれを電子顕微鏡で観察した。その結果，*M.bovis* ＢＣＧのrRNAは，他の真性細菌同様23Ｓ，16Ｓ，５Ｓの順で配列しており，おそらく１個のオペロンを形成していると考えられる。16Ｓおよび23SrRNA遺伝子の長さはそれぞれ1.46±0.06および2.95±0.12キロ塩基対であった。これは大腸菌*rrn*Bオペロンについて報告されている値とほぼ一致していた。サザンハイブリダイゼイションの結果とその後の塩基配列の決定から16Ｓと23SrRNA遺伝子の間の非コード領域にはtRNAの遺伝子は存在しないことを証明した。また，この領域の長さは，0.28±0.03キロ塩基対であった。大腸菌や枯草菌のrRNAオペロンのこの領域にはtRNA遺伝子が存在する事が報告されている。

［総　　括］

１）*M.bovis* ＢＣＧのリボソームＲＮＡ遺伝子の数は１セットであり大腸菌や枯草菌に比べて著しく少ない値であった。

２）*M.bovis* ＢＣＧのrRNAオペロンは他の真性細菌同様16Ｓ－23Ｓ－５Ｓの順に配列していた。

３）16Ｓと23SrRNA間の非コード領域の長さは0.28±0.03キロ塩基対であり，トランスファーＲＮＡ遺伝子の存在は認められなかった。

論文の審査結果の要旨

抗酸菌の遺伝学的解析は，今日までおもに非病原性の速発育性抗酸菌について行われてきた。

本研究では，弱毒化した病原性遅発育性抗酸菌*Mycobacterium bovis* ＢＣＧのリボソームＲＮＡ遺伝子（rRNA遺伝子）について解析を行った。その結果，rRNA遺伝子は染色体上に１セットしか存在していないことをサザンブロット法により明らかにし，大腸菌や枯草菌のこの遺伝子の数と比べて大変少ないことを示した。また，*M.bovis* ＢＣＧよりrRNA遺伝子のクローニングを行ない，サザンブロット法，Ｒループ法等を用い，rRNA遺伝子が16Ｓ－23Ｓ－５Ｓの順で配列しており１個のオペロンを形成していることを示した。さらに，16Ｓおよび23SrRNA遺伝子の大きさが大腸菌で報告されているものとほぼ一致していることを示した。

病原性遅発育性抗酸菌のrRNA遺伝子をクローニングし，その構造解析したのは本研究が初めてであり，萌芽的研究として，医学博士にふさわしいものと考える。