

氏名	丹羽修身
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第494号
学位授与の日付	昭和53年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科生物物理学専攻
学位論文題目	溶原性バクテリオファージ $\phi 81$ における組み込み～切り出し機構の遺伝学的研究

論文調査委員 (主査) 教授 小関治男 教授 由良 隆 教授 皆川貞一

論文内容の要旨

申請者の研究は、溶原性バクテリオファージの DNA が宿主細菌の染色体 DNA に組み込まれたり、切り出されたりするのに必要な、ファージゲノム上の領域を、 $\phi 81$ ファージを中心に、近縁の λ ファージなどとも比較しつつ解析したものである。

はじめに、 $\phi 81$ ファージ DNA 上での組み込み～切り出し機構に関与する領域を明らかにする目的で、電子顕微鏡を用いたヘテロ2本鎖 DNA 法による解析が行なわれている。 $\phi 81$ と $\phi 81$ から得られた形質導入ファージ $\phi 81$ pbio との間のヘテロ2本鎖 DNA や、それらと λ 、 λ pbio、 $\lambda_i^{\phi 81}$ 、 $\phi 81_i^{\lambda}$ などとの間のヘテロ2本鎖 DNA を解析することにより、 $\phi 81$ DNA 上での目的とする領域の位置が決定された。この DNA 領域は、約1800塩基対に相当する長さを持ち、ゲノムのほぼ中央に位置している。この領域には、ファージ DNA と大腸菌 DNA との間で特異的な組換えを起こすのに必要な塩基配列 (att) と、そのために必要な機能を供給する2つの遺伝子 (int および xis) とが含まれている。この約1800塩基対の組み込み～切り出しに関与する DNA 領域は、 $\phi 81$ 、 λ 、434、82などの λ 近縁ファージの間で相互に高い相同性を示すことが明らかにされ、これらの異なるファージ種の間で、この領域に関しては同一の起原から派生してきたことが示唆された。

つぎに、 $\phi 81$ と λ との間で、それぞれの int 遺伝子や xis 遺伝子を機能的な面から比較するために、 $\phi 81$ ファージから突然変異によって int や xis の機能を失った int⁻株や xis⁻株を分離し、既知の λ int⁻株や λ xis⁻株との間で相補性試験を行なった。なお、 $\phi 81$ int⁻や $\phi 81$ xis⁻の分離には独自の方法が考案され、これらの突然変異株を効率よく分離することに成功している。また、相補性試験には次のような実験系が開発された。大腸菌のトリプトファン遺伝子 (trp) の1つに λ ファージのゲノム断片が挿入された菌株をつくる。この菌は、trp 遺伝子がファージ DNA によって2分されているため、表現型はトリプトファン要求性 (trp⁻) になっているが、ファージ DNA が切り出されると、trp⁺に復帰するという性質をもっている。そして、この切り出しの反応には、int および xis の両者の機能が必

要であるため、この系を用いて trp^- から trp^+ への復帰頻度を測定すれば、菌体内における int や xis の活性を比較することができる。 $\phi 81$ と λ との間で、 int と xis の種々の組合せについてしらべたところ、 int および xis のいずれもが λ フェージに由来する場合、あるいはいずれもが $\phi 81$ フェージに由来する場合のようなホモの組合せに対し、たとえば λ の int と $\phi 81$ の xis というようなヘテロの組合せでは、切り出し反応の活性がかなり低下することが明らかにされた。この結果は、両フェージの int や xis が完全に同一ではないこと、ただし部分的には互に他を相補できることを示している。またこの結果は、 int と xis の蛋白質の間に特異的な相互作用があることを強く示唆している。このほか、 int 遺伝子の形質発現に関する遺伝的調節機構にも、 λ と $\phi 81$ との間にある程度の差異があること、また int や xis 反応の基質となるべき att の構造にもある程度の差があることを示唆する結果が得られている。

本論文の結果は、電子顕微鏡で検出された相同性から判定して、同一起原と考えられるフェージ領域の中に、 att 、 int 、 xis のそれぞれに関して、ある程度の変化が起きていることを示している。これらの変化は、それぞれのフェージ種が分かれてから、各フェージ種の中で、互に機能的な親和性を保ちながら次第に蓄積してきたものであろう。このような考えの上に立って、フェージゲノムの系統進化に関する問題が論じられている。

論文審査の結果の要旨

大腸菌には、それを宿主とする多種の溶源性バクテリオフェージが知られており、その多くは大腸菌染色体上の、それぞれに特異的な位置に組み込まれてプロフェージとなる。プロフェージは宿主菌とともに増殖し、誘発によって切り出されると再びフェージとなる。ウイルスと宿主との直接的な相互作用の典型であり、また感染による異種の DNA の結合は、遺伝情報の進化を考える上でも重要な示唆を与えるものであろう。

この組み込みや切り出しの過程は、フェージ DNA 上の特定の領域 att (pp') と、それに対応する大腸菌 DNA 上の att (bb') との間での部位特異的な組換えによるものであり、フェージ自身のもつ 2 つの遺伝子 int および xis の機能に依存している。これらの att (pp')、 int 、 xis はフェージ DNA 上で互に隣接して局在し、溶原フェージに特有の 1 つの機能領域を形成している。この領域は、異なるフェージ種の間でも、ゲノム上の位置や大きさがほぼ一定であり、一群の溶原フェージの間で互にどのような関係にあるのかは、大いに興味のある問題である。申請者は、この点をも考慮し、これまで比較的研究の少なかった $\phi 81$ を撰んで解析し、よく研究されている λ フェージとの比較を試みた。 $\phi 81$ は、この領域が λ フェージとある程度類似していると考えられていたものであり、材料の撰択は極めて適切であったといえよう。

申請者は、まず、電子顕微鏡によるヘテロ 2 本鎖 DNA を解析することにより、 $\phi 81$ DNA 上における組み込み～切り出し領域の位置を決定し、さらに $\phi 80$ 、 λ などとの間では DNA 全体にわたる相同地図を完成している。 $\phi 81$ の組み込み～切り出し領域の長さはゲノムの約 3.5%、約 1800 塩基対と推定され、 $\phi 80$ とは相同性がなく、 λ 、434、82 フェージとは互に高い相同性があることが明らかにされた。

次に、 λ フェージとの間で int や xis の機能に関して相同性があるかどうかをしらべるために、 $\phi 81$

から int⁻や xis⁻の突然変異株を分離し、 λ フェージ との間で相補性試験を行なっている。この試験には精度の高い実験系が開発され、その結果、これら2種のフェージの間で、int や xis にある程度の機能的な互換性が認められた。しかしながら、int と xis のいずれもが ϕ 81, または λ に由来するようなホモの組合せに対し、 λ の int と ϕ 81の xis というようなヘテロの組合せでは、切り出し反応の活性がかなり低下することが認められ、両フェージの int や xis は完全に同一のものでないことが判明した。

これらの結果は、同一起原と考えられる機能領域の中で、int, xis, att がそれぞれ互に相関しつつ変化してきたことを示唆しており、本論文で論議されているように、フェージの系統進化や種の分化を考える上での1つの重要な視点を与えるものであろう。また参考論文は生命の起原に関する申請者のすぐれた学識を示すものである。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。