

氏 名	森 田 潤 司 もり た じゆん じ
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	農 博 第 272 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 11 月 24 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	農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
学位論文題目	STUDIES ON THE EARLY STAGES OF INFECTION WITH BACTERIOPHAGE ϕX174 (バクテリオファージ ϕ X174 の感染初期過程に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 駒 野 徹 教授 山 田 秀 明 教授 山 本 龍 男

論 文 内 容 の 要 旨

バクテリオファージの感染初期過程は2段階の反応で進行すると考えられている。第1段階はファージ外殻タンパク質と大腸菌表層リボ多糖との反応、すなわち吸着で、第2段階はファージ外殻タンパク質と大腸菌膜タンパク質との間の相互作用によりファージ核酸の放出される反応、すなわちエキリップスである。本論文では ϕ X174 の宿主大腸菌への感染初期過程について述べたものである。

1. *in nivo* の感染系では³²P で標識した ϕ X174 を大腸菌 HF4704 に感染し、感染菌を0.05MEDTA で洗浄した洗浄液、及び感染菌の溶菌液をショ糖濃度勾配遠心で分析し、 ϕ X174 の吸着、1本鎖 DNA の2本鎖 DNA への転換機構を検討した。ファージの吸着は15°C では可逆的であったが、37°C では不可逆的であった。37°C では吸着したファージ粒子(114S)はDNase に感受性の1本鎖 DNA を放出した形のエキリップス粒子(50S—70S)を与えた。1本鎖 DNA は培地の添加により、複製されて2本鎖複製型 DNA (RF) となる。RF は細胞内で“50S 複製複合体”を形成している。

2. *in vivo* ではエキリップス粒子の形成の条件を検討した。 ϕ X174粒子は1mM 塩化カルシウムを含む飢餓緩衝液中では安定であるが、0.1M ではファージ感染性が低下し、70S エキリップス粒子が生成する。同様な結果はアルカリ土類金属を用いても得られた。

3. 大腸菌を0.05—0.1M塩化カルシウムで処理すると ϕ X 174 の1本鎖 DNA 及び RF 共に透過性が増大した。2価カチオンはファージ粒子のみならず、宿主菌に対しても影響を与えている。このDNAの透過性はポリアミン、ポリエチレングリコール等によっても3—5倍程度促進された。ポリエチレングリコールはリソチーム・プロトプラストに対してもDNAの取り込みに対して促進効果があった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究はバクテリオファージ ϕ X174 の大腸菌HF4704 に対する感染初期過程の機構を明らかにしたものである。

著者はまずファージ粒子 (114S) の感染にともなう形態的变化とファージ核酸の合成過程を明らかにするため、 ^{32}P で標識した ϕX174 を飢餓緩衝液中で宿主菌に感染させた。15°C で感染するとファージは菌体表面に吸着するが、この吸着は可逆的で、EDTAを含む緩衝液で洗浄すると完全な粒子として回収される。しかし37°C では不可逆的でファージ粒子は70S エクリップス粒子 (50S—70S) となることを見出した。この時 DNA は粒子と結合はしているが、DNase 感受性となっており、菌体内に注入されたDNAは2本鎖複製型となり、“50S複製複合体”を形成していることを明らかにした。

一方著者は *in vivo* において、0.1M の塩化カルシウムを含むアルカリ土類金属を用いると飢餓緩衝液中でもファージ粒子はエクリップス粒子を与えることを見出した。この事実はファージの感染性の低下、電子顕微鏡的観察、及びショ糖濃度勾配遠心分析により確認されている。

また0.01—0.1M の塩化カルシウムで処理した宿主大腸菌は、 ϕX174 1本鎖 DNA や複製型2本鎖 DNA の透過性を増大させることをトランスフェクションの実験結果から明らかにし、カルシウムなど2価カチオンはファージ粒子のみならず大腸菌の膜構造にも変化を与え、ファージの感染に重要な役割を果たしていることを示唆している。さらにカルシウム処理した大腸菌のファージ DNA の取り込み活性はポリエチレングリコールやポリアミン等によって3—5倍程度促進されることをも明らかにしている。

以上のように本研究は、バクテリオファージの大腸菌に対する感染初期過程を明らかにしたもので、ウイルス学、核酸生化学、微生物生化学に貢献するところが大きい。

よって本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。