

氏 名	岡 本 光 正 おか もと みつ まさ
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	論 理 博 第 613 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	バクテリオファージ・ラムダの細胞内形成過程の電子顕微鏡的 研究

(主 査)
論文調査委員 教 授 岡 田 節 人 教 授 皆 川 貞 一 教 授 由 良 隆

論 文 内 容 の 要 旨

バクテリオファージ・ラムダは大腸菌を宿主とするウィルスであり、次の二つの生活環を有している。一つは溶菌サイクルであって、宿主に感染するとウィルス DNA を被裂し、ウィルス蛋白質を産生し、これらの集合体としてのウィルス粒子を形成したのち、宿主を溶菌し、完成したウィルス粒子を放出する。もう一つは溶原サイクルであって宿主に感染したのち、ウィルス DNA はその自己増殖が抑制され、宿主 DNA の一部としてくみこまれる。この間、ウィルス粒子固有の蛋白質を生成しない。この溶原化状態は、ウィルス DNA の増殖を抑制している蛋白質がこわされるような状態になると終止し、宿主内でのウィルス DNA の自己増殖が開始し、前述の溶菌サイクルに入る。いわゆる誘発である。

ラムダファージの成熟 DNA 分子はほぼ48,000塩基対かうなっており、細胞内での被製状態では、いくつもの分子の連鎖した状態がみられる。この DNA 分子上にはば50種類の遺伝子が固定され、それぞれの突然変異株が知られている。そのうちファージ頭部形成に関与するファージ側の遺伝子としては、9ヶ、尾部形成に関与するものとしては、11ヶ知られている。この他頭部形成に関与する宿主側の遺伝子が1ヶ存在する。これらの変異株を用いた研究の結果、頭部と尾部は独立に形成されたのちに結合すること、頭部形成にあたっては、予め中空の頭部前駆体が形成され、のちに DNA が包みこまれることがわかっている。しかし乍らこれらは、変異株に蓄積する中間体の遺伝生化学的解析から推論されて来たものであって、直接この DNA の包みこみの過程を視覚化したものはなかった。本論文は、感染細胞内で DNA 分子がどのような過程をへて中空の頭部前駆体に包みこまれていくのかを電子顕微鏡下で明らかにしたものである。

感染細胞を滲透圧ショックによっておだやかにこわし、その細胞内容物を蔗糖溶液クッションを通して遠心し、底に沈めてあるカーボン支持膜を貼ったグリッド上に固定させることによって試料が調整されている。DNA と頭部前駆体との結合は、ホルマリン処理によって安定化されている。この方法は、両棲類の転写中の DNA 分子の視覚化のために、1969年に Millen らにかって開発された方法に改良を加えたものである。改良点は二点あり、一つは、細胞から吐出した糸状 DNA 分子が物理的に切断されるのを防ぐ

ために細胞からの吐出を直接、蔗糖クッション上で行ったこと、もう一つは、糸状 DNA 分子のコントラストをあげるために、重金属による染色に加えて、白金のシャドウイングを導入したところにある。これまで、細胞内に存在するファージ粒子と DNA との被合体を視覚化しようとの試みがいくつか存在したが、いずれもファージ粒子との両者を同時に視覚化することに失敗し、いずれか一方を犠牲にせざるをえなかった。本論文はこの失敗を服して両者を明確に視覚化し、両者の被合体の存在を明らかにしている。先づ、第1の重要な貢献である。

つぎに、本論文は、包みこみが連鎖状ファージ DNA 分子の一端から開始される第1の経路と、その中間点から開始される第2の経路の二つが存在することを明らかにし、その上の多くの中間体の存在をキャッチした。従来、包みこみはファージ DNA 分子の特定の末端から一方告に開始されてきたが、その特定の末端がいかにして露出されるかについては、明確な答えが存在しなかった。本研究によって明らかにされたような第二の経路が、特定の末端を露出するのに有用な経路であることは、予測されてきたことであったが、これまで、その存在は確認されてこなかった。第2の経路の存在を明らかにしたことは、この論文の第2の重要な貢献である。

これまで、頭部形式に関与する遺伝子のうち、A 遺伝子は、頭部前駆体が DNA と複合体をつくり、つづいて DNA の包みこみ及び包みこみ終了後の DNA の切断の全てに関与すると考えられてきた。本論文では、A 遺伝子の変異株でも、頭部前駆体と DNA との複合体が形成されていること、しかし乍ら、DNA の包みこみが全然行なわれていないことが明らかにされているので、A 遺伝子はむしろ複合体形成後の過程即ち、DNA そのものを包みこむのに関与するものであって、複合体形成に関与する遺伝子が他に存在する可能性を示唆しているこれは本論文の第3の貢献である。

論文審査の結果の要旨

λ ファージの頭部形態形成のうち、最も重要な過程はファージ DNA が頭部に組み込まれる反応である。この点について Emmons の仮説が提唱されていてこれを continuous packing hypothesis という。しかし、実際にどのような過程をたどって、DNA の詰ったファージ粒子が形成されるかを知るための、最も直接的な方法は、この過程を視覚化して追跡することである。

従来、ファージ DNA を直接電子顕微鏡下で観察する技術はいくらか開発されてはいるが、当面の研究目的には必ずしも有効ではなかった。申請者は、感染細胞の溶菌を阻止する系を用いて、ファージ形成の中間体を細胞内に蓄積させ、これを外からのリゾチーム添加によって溶菌させて中間体を視覚化する、という方式の開発に成功して、問題の解決をはかった。

詳細な観察の結果、実際に視覚化された過程は continuous packing hypothesis から予測されたものと本質的によく一致した。これによって生物の形態形成の一つのモデル系である、ファージ頭部への DNA の組み込み機構の解明に大きく貢献することとなった。観察は極めて注意深く行なわれていて、信頼度が高い。また、頭部形態形成にさまざまな欠損のある突然変異株を用いた観察を行ない、結果を遺伝学的な面からも信頼性のあるものとするに成功した。

以上の審査の結果、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。