

氏 名	東 敦 司 ひがし あつ し
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 259 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 5 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	農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
学位論文題目	STUDIES ON THE EFFECT OF RNA SYMTHESIS ON BACTERIOPHAGE ϕX174 DNA REPLICATION (バクテリオファージ(ϕ X174 DNA 複製におよぼす RNA 合成の 影響に関する研究))
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 ϕ X174 DNA は不連続的に複製されている。この不連続複製の開始にあたり RNA 合成がどのように影響をおよぼしているかを述べた論文である。その内容を要約すると、

- (1) DNA 依存 RNA 合成酵素の特異的な阻害剤であるリファンピシン ($200\mu\text{g/ml}$) を ϕ X174 感染10分前に培養液に加えるとファージ増殖は完全に阻害され、感染と同時に、感染5分後、10分後、に加えると、増殖はそれぞれ70%、60%、30%阻害され、感染20分以降に加えると増殖は殆ど阻害されなかった。ウラシル要求株の培養液からウラシルを枯渇して RNA 合成を止め、これにファージを感染させてもファージの増殖は認められなかった。
- (2) リファンピシン存在下で ϕ X174 を感染させ、DNA 合成を ^3H -チミンの取込みで調べた。ファージ感染10分前に薬剤を加えると DNA 合成は殆ど認められず、感染と同時に、感染5分後、10分後に加えると DNA 合成はそれぞれ90%、60%、30%の阻害が認められ、感染20分以降に加えると阻害は殆ど認められなかった。ウラシル要求株では、ウラシルを枯渇して30分後にファージを感染させても DNA 合成は正常に近い速度でしばらく続き、120分後に感染した場合でも約40分間は若干の合成が続いた。
- (3) 親 ϕ X174 複製型DNA (RF) の合成にリファンピシンがどのような影響をおよぼすかを、 ^{32}P で標識したファージを感染させ、抽出した DNAについてショ糖濃度勾配遠心法で分析した。この時宿主菌として DNA 合成開始温度感受性変異株を用いた。27°C 及び 43°C においてファージ感染10分前にリファンピシンを加えても親 RF の合成が認められた。ウラシル枯渇下で同様に調べても、親 RF の合成が認められた。
- (4) タンパク質合成阻害剤であるクロラムフェニコール ($30\mu\text{g/ml}$) 存在下での RF 複製におよぼすリファンピシンの影響を ^3H -チミンの取込みで調べた。感染15分後、または70分後にリファンピシンを加えても RF 複製は著しく阻害された。またクロラムフェニコールで1本鎖 DNA 合成を阻害した条件下で RF を蓄積させ、クロラムフェニコールを除き、1本鎖 DNA 合成を開始させる過程にリファンピシン

を加えることにより、1本鎖 DNA 合成に対する RNA 合成の影響を調べた。この条件下では1本鎖 DNA 合成は完全に阻害された。

論文審査の結果の要旨

本論文はバクテリオファージ ϕ X174 DNA の親複製型 DNA (RF) 合成、RF の複製及び1本鎖 DNA の合成におよぼす RNA 合成の役割を明らかにしようとしたものである。

著者はまず DNA 依存 RNA 合成酵素の特異的な阻害剤であるリファンピシン (200 μ g/ml) をファージ感染前に培養液に加えてファージの増殖に対する影響を調べたところファージの増殖は完全に阻害されることを認めた。そこで DNA 合成を調べてみると親 RF の合成は認められたが、RF 複製は認められなかった。またウラシル要求宿主菌のウラシル枯渇後にファージを感染しても同様な結果を得ている。リファンピシンをファージ感染前期に加えるとファージ増殖は30%以上阻害されるが、この間RF 複製及び1本鎖 DNA 合成は著しく阻害されてはいるが継続していることを認めている。リファンピシンをファージ感染後期に加えても、ファージ増殖には影響を与えないが、タンパク質合成阻害剤であるクロラムフェニコール (30 μ g/ml) を加えるとファージ生成は阻害されるなどの事実から、著者は、 ϕ X174 の mRNA は1本鎖 DNA 合成が始まる以前に合成されて比較的安定であり、継続して合成される必要がないものと結論している。

つぎにクロラムフェニコール存在下で RF 合成しか行なわれない条件下でリファンピシンを加えると RF 複製が阻害されることを明らかにしている。このことは、RF 複製が継続するにはタンパク質合成のため以外の RNA 合成が必要であり、したがって、これが RF 合成に必要なプライマー RNA であるとしている。

さらに著者は、1本鎖 DNA 合成の開始におよぼす RNA 合成の影響を、RF 複製から1本鎖 DNA 合成に切換わる時期にリファンピシンを加えることにより調べている。1本鎖 DNA 合成の開始は、リファンピシン及びクロラムフェニコールによって阻害される。したがって1本鎖 DNA 合成の開始には RNA 合成及びタンパク質合成が必要である。しかし、mRNA 合成はこの時期には不必要であることから、1本鎖 DNA 合成に必要とされる RNA 合成もまたプライマー RNA 合成とみなすことができると結論している。

以上のように、本研究は ϕ X174 DNA の複製過程における RNA 合成の影響について明らかにしたもので、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。