

氏 名	池 原 健 二 いけ はら けん じ
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	論 工 博 第 844 号
学位授与の日付	昭 和 51 年 1 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	Physicochemical Studies on the Structure of Coliphage fd (大腸菌ファージ fd の構造に関する物理化学的研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 倉 田 道 夫 教 授 福 井 三 郎 教 授 中 島 章 夫

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、大腸菌の雄株に特異的に感染する繊維状ファージ fd の物理化学的性質について研究した結果を述べ、それらの性質に基づいてファージの形態形成機構を考察したもので、7章より成っている。

第1章の序論では、遺伝情報の発現に関して、ファージの形態形成過程を物理化学的に研究する意義を述べている。

第2章は、本論文で用いる実験方法の詳細を述べたものである。ファージ fd の培養法、変性の方法と条件、ファージの構成成分の単離法、各構成成分の化学的諸性質および円偏光2色性などの物理化学的性質の測定法が述べられている。

第3章は、ファージ fd の構造について述べている。このファージは分子量185万の1本鎖環状 DNA (デオキシリボ核酸) と、分子量6万の微量コート蛋白質Aおよび分子量5240の主コート蛋白質Bの3種の構成成分より成る。ウイルス粒子内で DNA 分子は、完全な2重らせん構造の場合の約60%程度の塩基の積み重なり構造をとる。またA蛋白質は4量体としてウイルス粒子の末端に位置し、B蛋白質は DNA 分子をさや状にとりまく。後者の α -ヘリックス含量は90%に達する。中性水溶液中におけるウイルス粒子の沈降係数は40.1S, また固有粘度は8.68dl/gである。

第4章には、種々の変性条件下におけるウイルス粒子の変性挙動が述べられている。塩酸グアニジン変性では、解離したコート蛋白質と DNA は共にランダム鎖の状態まで変化する。変性過程の速度論的解析から、fd 粒子には塩酸グアニジンに対する安定性に分布のあることがわかった。SDS (ドデシル硫酸ナトリウム) 変性では、解離したコート蛋白質と DNA はいずれもヘリックス構造を残す。2-クロロエタノール変性では、15%の濃度の場合、A蛋白質だけが解離し、A蛋白質欠損ウイルス粒子が得られる。

第5章には、単離した DNA とコート蛋白質のコンホメーションについて研究した結果が述べられている。フェノール抽出および SDS 処理のいずれの場合にも、単離した DNA は塩基の特異的な積み重なり構造を失う。またランダム鎖の状態にまで変性したコート蛋白質は、変性剤を除去しても α -ヘリックス

含量の高いもとの構造にもどらず、 β 構造になる。

第6章は、DNA とコート蛋白質、およびA蛋白質欠損粒子とA蛋白質の会合反応について述べている。DNA とコート蛋白質Bとの会合性は、B蛋白質の α -ヘリックス含量に依存し、この含量が高いほど容易に起こる。またA蛋白質欠損粒子とA蛋白質の会合も起こるが、ウイルスの感染性を回復する条件を厳密に確立することはできなかった。

第7章は、得られた実験結果に基づいて、ウイルス粒子の形態形成の機構を考察したものである。このファージ fd が各構成成分に解離した後、構成成分の自己凝集反応によってもとの構造を回復する可能性はまったくない。一度ランダム鎖状態にまで変性したコート蛋白質が、 α -ヘリックス含量の高い構造にもどるためには、膜などの疎水的な特異な環境を必要とするように思われる。このような環境下ではじめて、コート蛋白質BとDNAの会合が起こり、ついでA蛋白質が結合して、ウイルス粒子の形態形成が完結するものと思われる。

論文審査の結果の要旨

この論文は、ウイルス粒子の形態形成機構を明らかにするための研究の第一歩として、比較的簡単な構造をもつ大腸菌ファージ fd をとり上げ、種々の条件下においてウイルス粒子をその構成成分に分離し、それらの物理化学性質をしらべると共に、分離された成分間の会合性を研究したものである。

ファージ fd は1本鎖の環状 DNA (デオキシリボ核酸; 分子量185万) と、2種類のコート蛋白質A (分子量6万) およびB (分子量5240) より成る繊維状のウイルス粒子である。ウイルス粒子内で DNA 分子は完全な2重らせんに比し、約60%程度の塩基の積み重なり構造をとる。B蛋白質は主コート蛋白質で、 α -ヘリックス含量は90%に達し、DNA 分子をさや状に取りまく。A蛋白質は微量成分で、4量体としてウイルス粒子の末端に位置する。塩酸グアニジン、塩化リチウム、熱、アルカリ、SDS (ドデシル硫酸ナトリウム)、2-クロロエタノールのいずれを用いても、変性は all-or-none 型で進行し、各構成成分の変性過程に強い協同性が存在することを示す。塩酸グアニジン中では、解離した DNA および蛋白質AとBは、いずれもランダム鎖の状態まで変性する。一度この状態まで変性した蛋白質Bは、塩酸グアニジンを除去すると β 構造に変化し、もとの α -ヘリックス構造にもどらない。またこの状態では DNA と会合しない。これに対して SDS や2-クロロエタノールのような疎水溶媒中では、ファージ fd の段階的構造変化が起こる。SDS 中の変性では、解離したB蛋白質は α -ヘリックス構造を保持する。この状態のB蛋白質は、SDS を除去すると DNA と会合し、その会合性は蛋白質の α -ヘリックス含量に強く依存する。2-クロロエタノール中では、濃度15%の場合に、A蛋白質のみが分離し、DNA とB蛋白質より成るA蛋白質欠損ウイルス粒子が得られる。変性剤の除去によりA蛋白質と、A蛋白質欠損粒子は会合するが、ウイルスの感染性が回復するための条件を確立するには至っていない。

以上要するに、本研究は繊維状ファージ fd を構成成分である DNA およびコート蛋白質AとBに分離し、各構成成分の構造を種々の条件下において明らかにすると共に、構成成分間の会合性を詳細にしらべ、DNA とコート蛋白質との会合には疎水的な環境が必要なことを明らかにしたものである。とくに一度ランダム鎖の状態にまで変性した主コート蛋白質Bを、変性剤除去により α -ヘリックス含量の高いもと

の構造にもどすことは不可能なことを示し、この過程に膜のようなウイルス構成成分以外の構造体が関与していることを暗示している。これらの知見は、複合粒子の形態形成機構を解明するための重要な手がかりを与えるものであり、学術上また工学上寄与するところが大きい。

よって、本論文は工学博士の学位論文として価値あるものと認める。