

氏 名	岡 田 清 孝 おか た きよ たか
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	論 理 博 第 661 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 9 月 25 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	Physical map of the dispensable region of the genome of bacteriophage BF23 (バクテリオファージ BF 23 ゲノム上の欠失可能領域の物理的地図)

論文調査委員 (主 査) 教 授 小 関 治 男 教 授 高 浪 満 教 授 柳 田 充 弘

論 文 内 容 の 要 旨

BF23は大腸菌を宿主とするウィルレントファージである。型ファージの T5 と近縁のものであり、2 本鎖 DNA の一方の鎖に数個所の 1 本鎖切断があるという特徴を具えている。ゲノム DNA 上のある領域はファージ増殖に必須のものではなく、その領域を欠失してもファージの増殖には支障をきたさないことが知られている。この論文は、このような BF 23 DNA 上の欠失可能領域について、その構造を解析したものである。

ある領域が欠失可能であるということは、たとえその領域に遺伝子があるとしても、それらの突然変異などによる失活が、必ずしも表現型にあらわれないことを意味している。したがって、遺伝子を標識化して利用するという従来の遺伝学的解析法が、そのまま適用できるとはかぎらない。この論文では、これらの点を考慮し、制限酵素 Eco RI および Hind III がそれぞれ特異的に識別する DNA 上の部位を標識として利用している。

BF23 の原株とそれから分離された13株の欠失変異株について解析が進められ、まず CsCl 密度勾配遠心法による粒子密度の測定から各株の欠失領域の長さが推定された。また、一定の条件下でファージ粒子の高温 (57℃) に対する耐性を比較すると、粒子密度と平行して、欠失領域が大きくなるほど熱耐性が上がることが観察された。次に、これら14株のファージからそれぞれ DNA を抽出し、Eco RI と Hind III およびそれらの併用によって DNA を切断した後、得られた DNA 断片をアガロースゲル電気泳動法によって分画した。泳動パターンの比較から、各欠失株ごとに、どの DNA 断片がどの程度欠失しているかが推定され、欠失の位置と大きさが決定された。これらの実験と並行して、各欠失株間の交雑実験が行なわれており、組換えによって野生型ファージと同等の DNA をもつファージ粒子が生じるかどうかから、交雑に用いた 2 株の間で欠失領域にオーバーラップがあるかどうかしらべられている。これら全ての結果を総合して、BF 23 の欠失可能領域の大きさは 11.4×10^8 ダルトン、すなわち全ゲノムの約15.5%と推定され、この領域内に存在する 5 個の Eco RI 認識部位と 2 個の Hind III 認識部位の位置が決定され

た。そして、この物理的地図の上に立って、各欠失株で欠失している DNA 領域が、用いた13株の全てについて同定されている。このほか、このファージの特徴である1本鎖切断についても調べられており、野生型 DNA にみられる5個所の切断点のうち、その1つがこの欠失可能領域内に存在していることが示され、その位置が確定された。なお、1本鎖切断は常に全ての DNA の全ての可能な点で起きているのではなく、ファージ粒子ごとにある程度の不均一性があることも観察された。これらの1本鎖切断については、参考論文3で別に詳しく解析されている。また参考論文1および2では、BF 23 の欠失可能領域に存在する転移 RNA 遺伝子群について報告されており、本論文ではこれらの結果をも含めて、この領域の構造と機能が総合的に論じられている。

論文審査の結果の要旨

バクテリオファージ BF23 の DNA には、ファージにとって不可欠の遺伝情報ばかりではなく、大腸菌での増殖には無くても済むような遺伝情報もまた含まれている。このような情報は DNA 上にある領域に局在しており、この領域に関して種々の DNA 欠失変異が分離されている。このような領域は遺伝学的に興味のあるものであり、申請者の研究は BF 23 ゲノムの欠失可能領域について、その構造を詳細に解析したものである。参考論文1および2の研究から、この領域に約20個の転移 RNA 遺伝子の存在が示されており、その意味でもこの領域の構造解析は興味ある問題である。しかしながら、それらの転移RNAの遺伝子を指標として従来の遺伝学的解析法を適用するには多くの困難が予測される。この点を考慮して主論文の研究では、最近開発されてきた制限酵素類による特異的部位での DNA 切断と、それによって得られる DNA 断片のゲル電気泳動法による解析を利用して、欠失可能領域の詳細な物理的地図を作成した。BF 23 におけるこの領域の大きさは、全ゲノムの約15.5%と推定され、13株の異なる DNA 欠失株について、それぞれの欠失している部分がこの物理的地図上に位置づけられた。また BF23 では、DNA 2本鎖の一方の鎖に数個所の1本鎖切断があるという特徴が知られているが、参考論文3では、そのような切断の位置を知るためにユニークな生化学的方法を開発し、5個所の切断点の位置をゲノム上に決定した。そして主論文では、それら切断点の1つが欠失可能領域の内に存在していることを示している。このように、申請者は主論文、参考論文を通じて、BF 23 ゲノムの構造と機能の研究を集中的に進め、多くの興味ある結果を得るとともに、一般的な方法論への貢献も多く、申請者の分子生物学の分野に対する該博な知識が十分に示されている。

よって、本論文は理学博士の学位論文に値するものと認める。