

|         |                                                                                                         |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名     | 西 村 勁 一 郎<br>にし むら けい いち ろう                                                                             |
| 学位の種類   | 農 学 博 士                                                                                                 |
| 学位記番号   | 論 農 博 第 372 号                                                                                           |
| 学位授与の日付 | 昭 和 47 年 3 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  | <b>Studies on the Mechanism of Phagocidal Action of Oxidized Polyamines</b><br>(ポリアミン酸化物の殺ファージ機構に関する研究) |
| 論文調査委員  | (主 査)<br>教 授 中 島 稔 教 授 小 野 寺 幸 之 進 教 授 山 田 秀 明                                                          |

### 論 文 内 容 の 要 旨

天然ポリアミンであるスベルミンやスベルミジンは、牛の血漿に含まれるアミン酸化酵素によって酸化され、それぞれ末端にアルデヒド基をもつ酸化誘導体 (OSP, OSPD と略記) を与えるが、これらの OSP や OSPD は、各種のバクテリアの生育を阻害し、その他植物ウイルス、動物ウイルス、ある種のバクテリオファージなどを不活性化することが知られている。

本論文は OSP に非感受性ファージである  $\phi$ X 174 と  $T_4$  および感受性ファージである  $T_5$  を用いて、OSP などのポリアミン酸化物の殺ファージ機構を解明した結果をとりまとめたものである。

#### 1. アミン酸化酵素の精製およびポリアミン類の酸化

アミン酸化酵素は牛血漿より山田らの方法によって精製した。ポリアミン酸化物の濃度は、消費された酸素量をワールブルグ検圧計で測定し、消費酸素量より計算によって求めた。

#### 2. $\phi$ X 174 DNA に対する OSP の影響

ファージ  $\phi$ X 174 は 0.1 m MOSP と 30°C で 90 分間処理してもほとんど不活性化されなかったが、尿素処理した  $\phi$ X 174 を 0.1 m MOSP で処理し、大腸菌のスフェロプラストに感染させると、ファージ生成は顕著に阻害された。さらに  $\phi$ X 174 DNA (1 本鎖環状 DNA) を OSP で同様に処理するとファージ生成は顕著に阻害されるが、RF I DNA (二本鎖環状 DNA) を OSP で処理した後、スフェロプラストに感染させてもファージ生成は阻害されなかった。

#### 3. $T_4$ DNA に対する OSP の影響

ファージ  $T_4$  も  $\phi$ X 174 と同じく 0.1 m MOSP と 30°C で 90 分間処理してもほとんど不活性化されなかったが、 $T_4$  を長時間透析するといくらか OSP によって不活性化されるようになった。しかしその不活性化の割合は  $T_5$  のそれよりはるかに低かった。一方、 $T_4$  DNA を OSP と処理することによって、形質転換ファージの出現は強く抑制され、その阻害度は  $T_5$  の不活性化の場合よりさらに顕著であった。

#### 4. ファージおよびファージ DNA に対する OSP とアクロレインの影響

殺ファージ性を有する本体は OSP でなく、それが分解して生じたアクロレインであろうという説の妥当性を  $T_5$  粒子および熱変性した野性型  $T_4$  DNA を用いて検討した。その結果アクロレインは OSP の約千倍の濃度で  $T_5$  を同程度に不活性化し、また数百倍の濃度で形質転換ファージの出現率を同程度に阻害した。

#### 5. 一本鎖および二本鎖 DNA と OSP との相互作用

DNA の構造が一本鎖であるか二本鎖であるかによって、OSP との反応性が異なることを明確にするため、種々の条件で熱変性し、また種々の段階で OSP と処理した  $T_4$  DNA を用いて形質転換を行ない、おのおの場合の形質転換ファージの出現率を比較検討した。その結果、未変性 DNA を用いると、形質転換ファージの出現率は熱変性 DNA の場合よりも低く、熱変性 DNA を OSP で処理するとその出現率は著しく低下し、さらに未変性 DNA を OSP で処理した後に熱変性しても、形質転換ファージの出現率は著しく低下することがわかった。

### 論文審査の結果の要旨

天然ポリアミンであるスペルミンやスペルミジンが動物や微生物に対して毒性を有することは古くから知られていたが、近年これらのポリアミン類をアミン酸化酵素で処理することにより生成するポリアミン酸化物 OSP や OSPD が、植物ウイルスや動物ウイルス、ある種のバクテリオファージなどを不活性化することが見出された。またファージの種類によってポリアミン酸化物によるファージの不活性化の程度に著しい差異があることが認められている。

著者は OSP に非感受性ファージである  $\phi X 174$  と  $T_4$ 、および感受性ファージである  $T_5$  を用いて、その感受性の差異が何に基因するかを明らかにするために詳細な実験を行なった。その結果、OSP は非感受性ファージ殻たんぱく質を透過しにくい、ファージ粒子を尿素処理してスパイクを取り去るか、あるいは殻たんぱく質を変性させると OSP が粒子内に侵入し易くなり、ファージ DNA と反応することによりファージを不活性化することが明らかとなった。また一本鎖 DNA は OSP によって強く不活性化されるが、二本鎖 DNA は不活性化されにくい事実を見つけ、これは OSP の作用点が核酸塩基であって、OSP と核酸との反応には核酸の二次構造が大きく関与しているためであると推論している。

著者はさらに、殺ファージ性の本体がアクロレインであろうという説に対して、アクロレインは OSP に比べて非常に弱い殺ファージ力しかもたず、形質転換ファージの形成阻害力を極めて弱いことを実証し、アクロレインがファージ粒子内で DNA と反応してファージを不活性化する可能性を否定した。

このように本論文はこれまで不明確であったポリアミン酸化物の殺ファージ機構、とくにその感受性の解明に新しい知見を加えたもので、ファージの化学および生化学の分野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。