

氏名	清 文 川 名
学位の種類	清 文 川 名 がわ ふみ きよ 理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 689 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 3 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	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学位論文題目	大腸菌の tRNA 生合成に関するヌクレアーゼの研究

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

転移 RNA (tRNA) は、遺伝子形質発現の過程で核酸上の塩基配列をタンパク質上のアミノ酸配列に対応づけるという役割をもった一群の RNA 分子である。それぞれのアミノ酸や遺伝暗号に対応して、大腸菌では約50種類の tRNA が存在するが、いずれも約80塩基程度の比較的小さな RNA 分子であり、いずれもがクローバ葉モデルとして表示できるような塩基配列をもっている。これらの tRNA は、それぞれ tRNA 遺伝子から転写されたものであるが、まず両端に余分な RNA 部分をもった tRNA 前駆体として転写され、後にそれらの部分が除去されて tRNA となる。この過程は tRNA のプロセッシングとよばれている。申請者の論文は、このプロセッシングに関するヌクレアーゼを解析したものである。

論文の前半では、まず tRNA の 3' 末端のプロセッシングに関するヌクレアーゼ RNase Q の問題が取扱われている。大腸菌抽出液から、tRNA 前駆体のプロセッシング活性や poly A の分解活性などを検定指標として、カラムクロマトグラフ分画法を繰り返えし、高度に精製された RNase Q の標品を得ている。この精製の過程で、RNase Q が既報のどのヌクレアーゼとも異なった新しい酵素であることが明らかにされ、単独で tRNA 前駆体の 3' 末端を正確にプロセスするものであることが証明された。なお、大腸菌の tRNA 遺伝子には、全ての tRNA に共通な 3' 末端の CCA 配列が、DNA 上に既に存在していることが知られているが、RNase Q はこの前駆体 RNA 上に転写された CCA を残して正確にプロセスする酵素である。

論文の後半は、tRNA の 5' 末端をプロセスするヌクレアーゼ RNase P に関する研究である。RNase P は、tRNA のプロセッシングに関する RNase の中で最初に明確にされた酵素であり、大腸菌ではこの酵素活性に関する遺伝子 rnp A、rnp B なども知られている。ところが最近になって、この酵素がタンパク質と RNA の複合体であることが報告され、核酸を含む酵素として再び注目されるようになった。このような状況下で、申請者はこの RNase P を高度に精製し、それから得た RNA をフィンガープリント法で同定するとともに、精製酵素から分離した RNA 成分とタンパク質成分を用いて、RNase P の再構成に成功している。また、rnp A および rnp B 遺伝子の高温感受性変異株を利用した研究から、

後者の rnp B が RNase P の成分の RNA 成分に関するものであることが示唆され、さらに、rnp B の変異株 TS2418 株ではその RNA が野生型のものに比べて少し長くなっていることが、フィンガープリント法による解析から示されている。

考察では、ここで得られた RNase Q および RNase P に関する知見を中心に、tRNA の 3' 末端および 5' 末端のプロセッシングやこれら酵素の作用機作について、これまでの報告とも対比しつつそれぞれ詳細に論議している。

論文審査の結果の要旨

本論文は、大腸菌の tRNA プロセッシングに関与するヌクレアーゼ RNase P および RNase Q について詳細な研究をおこなったものである。tRNA の生合成では、まず両端に余分な RNA 部分をもった tRNA 前駆体として tRNA 遺伝子から転写され、のちにこれらの部分が除去されて tRNA となる。この過程は tRNA プロセッシングとよばれており、大腸菌に限らず、真核生物にも共通した一般的な問題である。

大腸菌では、tRNA の 5' 端を特異的にプロセスする酵素として RNase P が同定されている。そして、この RNase P に関する高温感受性変異株を用いた研究などから、tRNA 数分子を含むような大きな tRNA 前駆体は、まず、RNase O によって大きく切断され、つぎに RNase P が作用して各 tRNA の 5' 端をプロセスすると、RNase Q が働いて 3' 端がプロセスされるという、段階的プロセッシングのモデルが提唱されていた。申請者は、このモデルからその存在が示唆されていた RNase Q を精製、同定することに成功し、この酵素が既報のどの RNase とも異なる新しいものであり、tRNA の 3' 端を正確に切断する酵素であることを証明した。

また RNase P については、この酵素が RNA とタンパク質の複合体であるという興味深い知見が最近報告されているが、申請者はこの RNase P を高度に精製し、含まれる RNA 成分をフィンガープリント法で同定した。そしてさらに、分離した RNA 成分とタンパク質成分から RNase P を再構成することにも成功した。変異した酵素の RNA 成分なども解析されており、RNase P に関して多くの知見が得られている。また考察では、この RNA 成分のプロセッシングにおける役割等が論じられている。

これらの研究成果は、広くこの分野の研究に資するものであり、今後の発展に寄与するところも大きい。また参考論文もこの分野に関連したものであり、申請者の優れた研究能力と高い学識を示している。よって本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。