

氏名	猪子英俊 いのこ ひでとし
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第 410 号
学位授与の日付	昭和 51 年 7 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	理学研究科化学専攻
学位論文題目	大腸菌における転写終結因子 (ρ) 変異株の分子遺伝学的研究

論文調査委員 (主査) 教授 由良 隆 教授 香月裕彦 教授 波多野博行

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は大腸菌における DNA 転写の終結機構を知るために、転写終結変異株を分離し、その分子遺伝学的・生化学的意義を研究したものである。

DNA を遺伝子とする生物では、DNA 分子に刻まれた遺伝情報が発現され、最終的に蛋白質の特異的一次構造が形質として規定される。この過程において情報発現の調節は主として RNA が DNA を転写し合成される段階で行われる。この際 RNA 合成は DNA 分子上に分節的に存在する「転写とその調節の遺伝単位」即ちオペロンごとに開始され終結する。オペロン説の妥当性は大腸菌および大腸菌ファージの研究を中心に実証されてきた。

転写調節の研究は今迄、オペロン単位での RNA 合成能を知るため、主としてその開始機構に重点が置かれてきた。これに対し近年、オペロンがそれ自身調節の独立性を保存するためには、その上流に位置する近傍 DNA の転写終結がまず必要であることが融合オペロンの研究から知られてきた。即ち、形質発現をオペロン群の調節として把握する見解が深まり、この視点より発現調節における転写終結の意義が重視されてきた。

RNA 合成の終結機構については、従来より蛋白性因子による転写阻止と、転写酵素 RNA ポリメラーゼ自身による転写終結の可能性が考えられているが、実体的に知られるところは少ない。その中、1969年 J. Roberts により大腸菌抽出液より精製単離された ρ 因子はファージ λ DNA の特定部位に働いて、その転写を終結させる事実が知られている。これらは何れも酵素的 RNA 合成反応に基づく理解であって、細胞における RNA 合成の終結機構については未だ殆ど詳らかではない。

申請者は大腸菌を宿主とする λ ファージの感染初期転写に関する発現調節の分子機作を巧みに利用して、宿主大腸菌の転写調節変異株 nit 群を分離する方法を確立した。nit とは λ ファージの N 蛋白非依存的継続転写 (N-independent transcription) の意である。

数多い nit 変異株を遺伝解析した結果、その 1 群 nit A 変異株は大腸菌染色体上 ilv-met E 間に位置

する単一変異であることが確立した。nit A は λ フェージ感染初期発現の詳細な研究の結果、転写終結変異株でありまた生化学的・免疫化学的研究の結果、転写終結因子 ρ の変異株であることが判明した。即ち nit A 株の生産する ρ 因子は転写終結活性も低く、また DNA 結合能、分子会合能、蛋白分解酵素感受性等、蛋白化学的にも変化している。申請者はさらに、高温で増殖できない nit A 変異株を分離したところ、生産される ρ 因子は温度感受性であった。これらの事実は nit A 遺伝子が ρ 因子の構造遺伝子であり、また ρ 因子は大腸菌の増殖に必須な転写終結調節因子として実際細胞内で働いていることを強く示唆するものである。申請者はまた nit 変異株の他の 1 群 nit B 変異が RNA ポリメラーゼ遺伝子の変異で、生産されるポリメラーゼは転写終結能が低下していることを見出している。

これらの結果は大腸菌細胞における転写終結調節の機構を実証的に示したものであり、終結異常のもたらず細胞生理学的変化の研究や転写終結の生化学的機作の解明に基盤を与えた研究である。

論文審査の結果の要旨

Jacob と Monod により提唱されたオペロンモデルは、遺伝情報発現の調節機構に関するもので、その基本的妥当性は今日迄実証されてきた。しかし近年、主として遺伝子の組換えや挿入現象の結果、細胞における情報発現の調節は、単純な個々のオペロン調節の集積の結果ではなく、いくつかのオペロン系に亘る調節として把握することが必要となった。即ちあるオペロンの転写開始の調節は、もし先行する上流転写が継続すると、その独自性が著しく乱される。こゝに転写調節は、開始のみならず終結機構の解明が重視されてきた。今一つ近年明らかになりつゝある調節機構としてアテニューエーターがある。ある種のオペロンにおいては、開始点よりスタートした RNA 合成はそのまま構造遺伝子群の転写へ移行するのでなく、その直前で相当量低減する。このような転写低減部位はアテニューエーター領域と呼ばれている。

転写調節に関する研究分野において、その終結機構の解明が要請されている時、申請者が独自の創意により転写調節変異株 nit 群の分離法を確立した意義は大きい。この方法の特徴は、複雑な宿主菌の調節機構の変化を、遺伝学的・生化学的により解析の進んだフェージゲノムの発現を対象として追究した後、再び宿主菌で検証したところにある。上述したオペロン転写の終結や、アテニューエーターによる転写低減には、大腸菌転写終結因子 ρ およびこれと相互作用の下に RNA ポリメラーゼが関与している可能性が大きく、申請者の分離した nit 群の変異株は、細胞における転写調節機構の解析に基だ有効な手段を与えるものと考えられる。

極く最近、外国の二三の研究室においても ρ 因子変異株の分離は、極性効果解除サブレッサー変異を指標として成功した。極性効果は mRNA の翻訳停止が何らかの機作で DNA 転写の終結をもたらすことを示している。申請者の確立した方法は理論上広範囲の転写調節変異株の分離に適用できる。現に ρ の変異株(nit A)、RNA ポリメラーゼ終結変異株 (nit B) 以外にも未だ機能が確定されていない単一 nit 変異株が多く得られており、この方法が翻訳機構との関連を始めとする新しい型の転写調節機作を研究する上で有効な変異の発見に役立つ可能性がある。

申請者はまた本論文において ρ 因子による細胞の転写終結機作につき、mRNA-RNA ポリメラーゼ- ρ による転写終結複合体形成や、その翻訳機構との関連性を総合したモデルを提出している。これは、 ρ 作

用や細胞内 ρ 含量に関する生化学的・免疫化学的研究結果と、 ρ 変異株の示す表現型を組合せて作られたもので、オペロン転写の終結や極性効果の現象をうまく説明している。

以上の結果は細胞における転写終結調節を実証的に示した最初の発見であり、また独創性をもってその機構の総合的説明を行っている。

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。