

氏名	伊藤純悦 いとうじゆんえつ
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第152号
学位授与の日付	昭和42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	<b>Studies on the Regulation of Tryptophan Biosynthesis in <i>Escherichia coli</i></b> (大腸菌に於けるトリプトファン生合成の調節に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 常脇恒一郎 教授 今村駿一郎 教授 満田久輝

### 論文内容の要旨

本論文は大腸菌におけるトリプトファンの生合成経路を明らかにし、それに関与する各酵素の産生の制御機構を解明するために行なった遺伝生化学的研究を論述したものである。本研究の遂行にあたって、著者はつぎの五つの目標を設定した。(1)種々のトリプトファン突然変異遺伝子の生化学的特性の調査。(2)トリプトファン生合成経路の究明。(3)トリプトファン生合成に関与する酵素の分離。(4)酵素産生の遺伝的調節機構の解明。(5)合成経路のタンパクレベルでの調節機構の解明。

まず、大腸菌の野生型と著者らが分離した37の点突然変異系統、9つの欠失突然変異系統を用い、それらのトリプトファンおよびその前駆物質に対する生長反応と、トリプトファン前駆物質の蓄積について分析を行なった。その結果、トリプトファンはコリズミン酸からアントラニル酸、PRA (N-5'-phosphoribosyl anthranilic acid), CdRP (1-(o-carboxyphenylamino)-1-deoxyribulose-5-phosphate), InGP (indole-3-glycerol phosphate) を経て合成されること、および、この合成経路を支配する5つの構造遺伝子 *try A*, *try B*, *try C*, *try D*, *try E* はこの順序で互いに隣接して染色体上に配列されていることを確認した。

ついで、コリズミン酸からアントラニル酸への変化は *try E* 遺伝子の産物である Component I と *try D* 遺伝子の産物 Component II よりなるアントラニル酸合成酵素に、アントラニル酸から PRA への変化は *try D* 遺伝子の支配する PR 転移酵素に、PRA から CdRP を経由して InGP にいたる過程は *try C* 遺伝子の支配する InGP 合成酵素に、そして InGP からトリプトファンへの変化は *try B* 遺伝子の支配する Bタンパクと *try A* 遺伝子の支配する Aタンパクよりなるトリプトファン合成酵素に支配されていることを明らかにした。また、これらの諸酵素およびそれを構成するタンパク部分をショ糖密度勾配を利用する遠心分離法およびセファデックス・ゲル濾過法によって分離した。

さらに、これら酵素タンパクの産生はすべて *try* 遺伝子群より離れた位置にある調節遺伝子 *Rtry* の支配下にあることを不抑制突然変異形質のフェージによる導入実験によって証明した。そして、*try A*

をのぞく他の構造遺伝子のナンセンス突然変異遺伝子は作動遺伝子に対し末端側にある他の構造遺伝子に極性効果を示すこと、トリプトファンを培地に添加あるいは除去することによって5種の酵素タンパクの産生が同時にしかも同程度に抑制あるいは促進されることを確かめた。これらの事実から、トリプトファン合成に関与する5構造遺伝子は一つのオペロンを構成していることが明らかになった。また、アントラニル酸合成酵素を含む反応系にトリプトファンを添加することにより同酵素の活性が阻害されることを確かめ、トリプトファン合成に関与する酵素の活性がこの合成系の最終産物によっても調節されうることを明らかにした。

以上の結果、大腸菌におけるトリプトファンの生合成経路とその各過程を支配する酵素が確認され、これら酵素の産生および活性を制御する遺伝子およびタンパクレベルの機構が明らかになった。

### 論文審査の結果の要旨

遺伝子作用の調節機構は、現在、遺伝学におけるもっとも重要な問題の一つである。

本論文の著者は、この機構を解明するため、大腸菌のトリプトファン生合成経路を遺伝学的ならびに生化学的に追究した。すなわち、著者らが分離した種々の突然変異系統を用い、コリズミン酸からトリプトファンにいたる生合成経路を明らかにするとともに、その各過程に関与する酵素の分離に成功した。一方、これらの酵素あるいはその構成タンパクの産生を直接支配している五つの構造遺伝子を同定し、それらの染色体上の配列順序がトリプトファン合成経路における作用順序と同一であることを示した。さらに、*Rtry* と名づけられた単一の調節遺伝子が、これら5構造遺伝子の酵素産生を遺伝的に制御していることを明らかにした。この事実と、極性効果をもつナンセンス突然変異の発見は、上記5構造遺伝子が一つのオペロンを構成していることを示している。さらにまた、この合成経路の最終産物であるトリプトファンが経路の最初に働く酵素を阻害することを実証し、この経路の反応がタンパクレベルでも制御されていることを明らかにした。

このように本研究は、大腸菌のトリプトファン生合成系の遺伝学的ならびに生化学的特性を明確にし、遺伝子作用の調節機構を明らかにしたものであって、生化学遺伝学に寄与するところがきわめて大きい。

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。