

氏名	森 孝 もりもと たかし
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	論 理 博 第 235 号
学位授与の日付	昭 和 43 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 Properties of Ribosomal Subunits from <i>Escherichia coli</i></b> (大腸菌リボソーム亜粒子の性状に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教授 芦田讓治 教授 北村四郎 教授 竹内郁夫 教授 杉野幸夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

大腸菌から、5~10 mM の  $Mg^{2+}$  を含むトリス緩衝液を用いて、リボソームを抽出すると、100Sおよび70S リボソームのほかに、少量の50Sと30S顆粒が存在する。大腸菌に $^{32}P$ を短時間とりこませると、まずこの遊離した少量の50Sおよび30S顆粒に放射能が見られることなどから、これらをそれぞれN50SおよびN30S亜粒子とよび、70Sと100Sリボソームを構成するD50SおよびD30S亜粒子と区別することになっている。

しかし、D亜粒子とN亜粒子との性状や相互関係については、なお不明の点が多かった。主論文第1部は、N50S亜粒子に含まれる $\gamma$  RNA について調べたものである。 $^{32}P$ で標識した大腸菌体から、13mMの $Mg^{2+}$ を含む燐酸緩衝液を用いてリボソームを抽出し、同濃度の $Mg^{2+}$ を含む蔗糖密度勾配によってN50SおよびN30Sの分画を得た。そして標準として、標識しない大腸菌を用いて粗抽出液あるいは100Sリボソームを調製し、上記各分画に混合した。これら混合液のおのおのを2分し、一半からはSDSフェノール法によりRNAを抽出し、他半は0.1 mMの $Mg^{2+}$ を含むトリス緩衝液に対し数時間透析した。抽出したRNAと、透析したリボソームをそれぞれ蔗糖密度勾配によって分画し、放射能の分布を調べて、リボソームについては50S対30S亜粒子の相対量、RNAについては23S対16S $\gamma$  RNAの相対量を求めた。得られた値の比較検討は、N50S亜粒子が、D50S亜粒子と同様に、23S $\gamma$  RNAのみを含むことを示した。従って、N50S亜粒子が成熟過程にあるものとしても、この段階において既に23S RNAをもつものであることが示された。

第2部は、各種亜粒子相互間の結合関係を調べたものである。各種亜粒子は、調製中の損傷を軽減するため、蔗糖密度勾配遠心法のみによって分離した。大亜粒子と小亜粒子との間の相互作用をみるときは、小亜粒子を $^{32}P$ で標識し、重量比が2:1になるように混合し、また同じ沈降係数のN亜粒子とD亜粒子間の相互作用をみるときは、N亜粒子を標識し、重量比1:1になるように混合した。すべての場合、混合液のリボソーム濃度は1 mg/ml以上とした。そして、それら混合液を適当に処理することに

より、次のような新知見を得た。

(イ) 4種の亜粒子のうち、D30S 亜粒子のみが二量体を形成し得る。(ロ) D30S 亜粒子の二量体を D50S 亜粒子と共存させると、その単量体を用いた場合と同様、自由に D50S 亜粒子と結して 70S リボソームを作ることができる。(ハ) D50S と D30S 亜粒子を混合すると、70S リボソーム以外に、60S 成分が形成される。この成分は、両亜粒子の結合が弱くて膨潤しているため、沈降係数が小さくなったものであると推定できる。(ニ) 結合能をもたないと考えられていた N30S 亜粒子が、D50S 亜粒子と結合して、40S~72S の範囲の沈降係数をもつ4~6種類の顆粒を形成した。この結果は、亜粒子間の結合の機構や、リボソームの構造、および N 亜粒子から D 亜粒子への成熟過程に関して、多くの示唆を与えるものである。

つぎに、解離の中間段階にある亜粒子の変質を避けるため EDTA を用いて短時間内にリボソームを解離させ、蔗糖密度勾配遠心法によって沈降解析を行なった。60S 成分は、沈降パターンに現われたピークの位置により、また小亜粒子の二量体の存在は、沈降パターンから求めた 50S と 30S の顆粒の重量比により、解析した。その結果、リボソームの解離過程において、D30S 亜粒子の二量体が、50S 域に D50S 亜粒子と共存することを見いだしたが、60S 成分の存在はほとんど見いだし得なかった。これに対し、結合過程においては、D30S 亜粒子の二量体のほかに、60S 成分の存在が見られ、大小亜粒子が結合し、60S 成分を経て 70S リボソームを形成することを推定した。

参考論文2と4は、モルモットの肝臓リボソーム亜粒子の解離と結合について研究したものであり、その3は、大腸菌リボソーム亜粒子に関する予報的な報告である。その1は、胸腺の細胞核から標識の早い RNA を大分子のままとりだす試みであり、その5と6は、膵外分泌細胞における蛋白質の合成と分泌に関する研究である。

### 論文審査の結果の要旨

大腸菌リボソームの 50S および 30S 亜粒子のそれぞれに、2種類—すなわち、Mg 濃度に従って解離あるいは結合をする D (derived) 亜粒子と Mg 濃度を高めても結合しない N (native) 亜粒子—があることが知られ、後者は前者の未成熟のものであるとの説がある。この説が正しければ、亜粒子の成熟は相互結合能の形成を重要な内容とするものであり、N 亜粒子の結合に関する性質を調べることは、亜粒子成熟の過程と、亜粒子結合の機序を明らかにする手がかりを与えるであろう。また、D50S 亜粒子の  $\gamma$  RNA が 23S であるのに対し、N50S 亜粒子の  $\gamma$  RNA が 16S であるという Green らの実験結果の真偽は、亜粒子の成熟過程の考察において重大な関係をもつ。申請者はこれらの見地から、注意深い実験により、確実な知見を得ようとした。また他面、リボソーム亜粒子の解離・結合のしかたを大腸菌について調べることにより、高等動物の場合と比較して、リボソームの進化的考察に寄与しようという意図もあるのである。

N50S の  $\gamma$  RNA を注意深くとりだした結果は、Green らの結果と異なり、D50S のものと同様に 23S であり、従って N50S から D50S への成熟過程には、 $\gamma$  RNA の増大が含まれないとの結論が導かれた。また、4種類の粒子—N50S, N30S, D50S, D30S—相互間の結合に関する実験の結果、N30S 亜粒子は

D50S 亜粒子と結合可能であり、この結合によって、40Sから 72S の範囲の数種類の粒子が形成されることなどを証明し、解離と結合それぞれの過程の中間段階について、また亜粒子間の結合の機序やリボソームの構造について、興味ある考察を展開した。他方、リボソームの解離と結合の様相は、大腸菌においても、哺乳動物の肝細胞のそれと、本質的に異なるものであることを示した。

以上のように、主論文は、リボソームの構造の問題について寄与するところが大きい。また参考論文は、申請者が、細胞における蛋白質合成に関する問題についても貢献したことを示す。

よって、本論文は、理学博士の学位論文として価値があるものと認める。