

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | 五十嵐 貢一<br>い が ら し こう いち  |
| 学位の種類   | 理学博士   |
| 学位記番号   | 論理博第322号   |
| 学位授与の日付 | 昭和45年5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>The Role of RNA Polymerase in Genetic Transcription :<br/>Genetic and Biochemical Studies of RNA Polymerase<br/>Mutants of <i>Escherichia Coli</i></b><br>(遺伝情報転写における RNA ポリメラーゼの役割 : 大腸菌の RNA<br>ポリメラーゼ変異株の遺伝学および生化学的研究) |
| 論文調査委員  | (主査)<br>教授 由良 隆 教授 香月裕彦 教授 杉野幸夫  |

### 論文内容の要旨

大腸菌の RNA ポリメラーゼは主としてその酵素化学的性質の研究により遺伝情報転写反応を触媒するものと考えられてきたが、その構造及び RNA 合成の詳細な機構特に生体内での役割については不明の点が多い。本論文はこれらの諸点を明らかにする為に大腸菌の温度感受性株を含む多数の RNA ポリメラーゼ変異株の遺伝学的及び生化学的解析を行なった結果をまとめたものでその内容は次の3項目に要約される。

(1) RNA ポリメラーゼと特異的に結合してその働きを阻害する抗生物質ストレプトバリシンは野生型大腸菌におけるすべての RNA 合成を阻害する。一方ストレプトバリシン耐性変異株では *in vivo*, *in vitro* RNA 合成系何れでも薬剤の阻害効果は見られない。これらの結果は RNA ポリメラーゼの少なくとも一部の構成成分(サブユニット)がすべての RNA 合成に共通であり且必須であることを示す。又耐性変異は同酵素の構造を直接変えたと考えられる。

(2) ストレプトバリシン耐性株の中に同時に薬剤の有無に拘らず高温(42°C)で生育出来なくなった変異株が見出され、それらは高温に移すとすべての RNA 合成が極度に低下する。これら温度感受性株の作る RNA ポリメラーゼは薬剤に耐性を示すと同時に monomer 状態ではそれ自身野生型酵素に比し不安定である。之に反し dimer を作った状態(KCl 濃度の低い場合)での安定性は野生型と変わらない。更にこの変異により構造変化を受けたのは RNA ポリメラーゼのシグマーサブユニットでなく、いわゆる core enzyme の方であることが精製した酵素についての解析から明らかとなった。

(3) ストレプトバリシン耐性株、温度感受性株についての遺伝子解析の結果、前者は *argH* と *purD* 両遺伝子の間に存在する単一遺伝子(*stv*)に変異を起こしたものであり、後者は多くの場合2つの互に近接した遺伝子の同時的変異によることが判った。又部分的2倍体を用いた実験から *stv* 変異遺伝子は *stv*<sup>+</sup> に対し優性の場合と劣性の場合があること、そしてそれが部分2倍体から得られる RNA ポリメラーゼのストレプトバリシン耐性と相関々係を示すことが見出された。

以上の様な結果から大腸菌 RNA ポリメラーゼの少なくとも一部の構成単位は共通であり、実際大腸菌細胞内で DNA から現在知られている主な RNA (多分すべての RNA) が転写される過程に関与していることが示唆された。又 *stv* 遺伝子は RNA ポリメラーゼの構造を決定する構造遺伝子であり、その変異が上記共通で且必須の酵素成分に直接影響を与えると考えられる。更に温度感受性の RNA ポリメラーゼが monomer 状態でのみ不安定であることから RNA 合成の何れかの過程で monomer 状態の酵素が生理的意味をもつことが推論される。

### 論文審査の結果の要旨

遺伝情報が遺伝子 DNA から RNA に転写される段階に RNA ポリメラーゼが関与するであろうことは、同酵素が4種類のリボヌクレオチドから DNA を“い型”として RNA を作る反応を触媒することから想像されていたが直接的な証拠はなかった。

申請者は同酵素の特異的阻害剤ストレプトバリシン及びリファマイシンを用いて大腸菌 RNA ポリメラーゼの構造遺伝子の変異株の分離に成功し、それらの遺伝学的、生化学的解析によって同酵素が実際細胞内で情報転写に関与していることを直接示す結果を得た。特にストレプトバリシン耐性変異株の中で同時に温度感受性となった株を分離しその中の数株について詳細な遺伝子解析及び In vivo, In vitro RNA 合成の様式を調べた。その結果、RNA ポリメラーゼの少なくとも一部のサブユニット(上記薬剤により阻害を受けるサブユニット)がすべての主な RNA 分子種(リボソーム RNA, メッセンジャー RNA, 転移 RNA)の合成に共通であることを示唆するデータを得た。この事は例えば転移 RNA の合成に全く別の RNA ポリメラーゼが関与していると言う考え方に対する反証と見なし得る。更に温度感受性変異株の作る RNA ポリメラーゼが高い塩濃度下で monomer として存在する時にのみ野生型酵素に比し不安定であることを見出し、情報転写の少なくとも或る過程で monomer 状態の酵素が生理的意義をもつことを推論している。

これらの研究結果は、RNA ポリメラーゼの遺伝情報転写における役割を確立する上に重要な貢献をなすものであるのみでなく、同酵素の構造と機能の関係をサブユニットのレベルで今後明らかにして行く上にも重要な端緒を与えたものとして高く評価される。尚参考論文で発表された研究結果は主論文の内容の予報又はその一部を更に敷衍したものと、主論文とは直接関係のない大腸菌チミジンキナーゼ変異株の発見とその性質に関する遺伝生化学的研究の成果であり、何れも申請者が分子遺伝学の分野において広い知識と研究能力をもつことを示している。

以上のように申請者は RNA ポリメラーゼの変異株と云う新しい実験材料及び解析手段によって同酵素の生体内での役割について重要な問題点を明らかにした点で分子遺伝学の分野の発展に寄与する所大きい。

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。