

氏名	池内俊彦 いけうちとしひこ
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第 371 号
学位授与の日付	昭和 50 年 9 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 RNA ポリメラーゼの遺伝生化学的研究 ——特殊形質導入ファージの分離と解析及びその応用——

論文調査委員 (主査) 教授 由良 隆 教授 川出由己 教授 香月裕彦

論 文 内 容 の 要 旨

大腸菌の RNA ポリメラーゼは、遺伝情報を RNA に転写する段階を触媒する酵素で、 α 、 β 、 β' 、 σ の 4 種類のサブユニットから成り立っている。これ迄 β サブユニットに就ては変異株の研究などからその構造を決定する遺伝子も同定され、同サブユニットの機能の解析も進んでいるが、他のサブユニットに関しては遺伝学的研究は殆どなく、構造遺伝子の所在も不明であった。この様な状況において、 β サブユニット遺伝子の近傍に他のサブユニット遺伝子が隣接して存在する可能性を積極的に検討すると共に、ポリメラーゼ遺伝子(群)の形質発現調節機構を研究する目的で、 β サブユニット遺伝子をファージゲノムに組みこんだ形質導入ファージの分離を試みた。

先づラムダファージが通常溶原化される染色体上の部位を欠失した宿主菌にファージを感染させ、 β サブユニット遺伝子の近くにある *bfe* 遺伝子 (BF 23 ファージとコリシン E 群のレセプター合成に関する遺伝子) にファージゲノムが挿入された溶原菌を選択的に分離した。そしてその様な溶原菌を誘発して得られる溶菌液中に、 β サブユニット遺伝子を形質導入しうるファージが存在することを確認した。こうして分離された形質導入ファージ (λ_{rif}^+ と呼ぶ) のゲノムは、ファージの後期遺伝子群の大部分を欠失し、その代りに宿主染色体の一部 (染色体全体の約 0.5%) をもっていることが遺伝学的実験および DNA の電子顕微鏡的観察結果から証明された。

一方 β サブユニット遺伝子の近傍に起った温度感受性株を多数分離しその遺伝解析を行なった。先づ野生型大腸菌をニトロソグアニジンで処理し、低温 (30°C) でリファンピシン耐性株を選択し、その中から高温 (42°C) ではリファンピシンの有無に拘らず生育できない高温感受性株を独立に約 800 株分離した。これらの株を先に得られた λ_{rif}^+ ファージを用いて検索した結果、その約 70% がこのファージに組みこまれた宿主染色体部分に位置する遺伝子の変異であることが確認された。この中には多数の β 、 β' 両サブユニットの変異株が含まれており、従って λ_{rif}^+ ファージゲノムには少なくともこれら両サブユニットの構造遺伝子を組みこんでいることが明らかになった。

なお上記の形質導入ファージの分離に用いた λ 溶原菌すなわち λ ファージを bfe 遺伝子内に組みこんだ菌を誘発した後に観察されるいわゆる逸脱合成について調べた結果、 β 、 β' 両サブユニットの他に α サブユニットの合成も一時的に促進されることが分った。この結果が、 β 、 β' 両遺伝子の近くに α サブユニット遺伝子が存在することを意味するのかどうかは、今後検討すべき興味ある問題である。

論文審査の結果の要旨

遺伝情報の転写に主要な役割を果す RNA ポリメラーゼは、その生理的意義の重要性と共に少なくとも 4 種類のサブユニットから成る複雑な酵素であるため、個々のサブユニットの機能分担の実体を明らかにすることは、同酵素が転写レベルでの調節にどの様に関与するかを知る上でも極めて重要である。本論文で扱う研究はこの問題に遺伝学的手法により接近する一つの試みである。すなわち、RNA ポリメラーゼのサブユニットの中、これ迄に明らかにされた β サブユニット遺伝子およびその近くの遺伝子を溶原性ファージの一種である λ (ラムダ) ファージのゲノムに組みこませたものを分離しその構造および性質を詳細にしらべた。さらにそれらの知見を基礎として、 β サブユニット遺伝子の近くに起った多数の高温感受性変異株の遺伝解析を行った。

特殊形質導入ファージの分離に際しては、幾つかの方法の中からこの場合最も適当と思われるのを選び、 λ ファージゲノムと β サブユニット遺伝子の近くに挿入することに成功した。そこで得られた溶原菌を誘発して得られるファージの集団の中に β 遺伝子を組みこんだものを見出し、続いてその様な形質導入ファージにより溶原化されたヘテロゲノートを分離した。このヘテロゲノートの分離に当って幾つかの技術的困難を克服しえたことが、目的とするファージの分離を可能にしたと云えよう。

次に形質導入ファージ (λd_{rif}^+) の遺伝学的構成については、先づファージ間の交配実験により、さらに電子顕微鏡によるヘテロ二重鎖 DNA の観察により、ファージの後期遺伝子群の大部分を欠失し、その代りに β サブユニット遺伝子近傍の染色体部分をもちこんでいることが直接証明された。さらに電子顕微鏡観察の結果は、この場合の様に λ ファージが通常とは異なる染色体上の部位に挿入される時にも、 λ ゲノム上の正常な付着部位における交叉によってファージゲノムが組みこまれることを示している。

なお λd_{rif}^+ ファージを用いてリファンピシン耐性で選択した高温感受性株の大部分が実際 β 遺伝子付近で起った変異をもつことが示された。これは一般に用いられる F' 因子による解析よりも技術的に容易であり、また結果の判定に曖昧さを残さない点で勝れている。またこれらの変異株のジストロン解析の結果とも併せて、 λd_{rif}^+ ファージ上には少なくとも β 、 β' 両遺伝子が存在することが明らかにされた。最後に β 遺伝子の近くに λ ファージ (λC_{1857}) を組みこんだ溶原菌を高温で誘発すると、 β 、 β' サブユニットのみでなく、 α サブユニットの合成も一時的に促進されることが見出された。この結果は次の何れかの可能性を示唆する。(1) α 、 β 、 β' の構造遺伝子が何れも染色体上で接近して存在する。(2) α 遺伝子は β 、 β' 両遺伝子とは離れて存在するが、 α サブユニットの合成は β 、 β' の合成と何らかの機構により同調的に制御されている。この結果は、 α サブユニットの合成に関しては殆ど知見がない現時点では、今後の研究に手がかりを与えるものとして評価される。以上の様に、本論文は RNA ポリメラーゼの合成の遺伝的制御の問題に幾つかの基礎的知見を付加すると共に、今後の方向の研究に有力な方法を提供するものである。

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。