

氏 名	坂 野 仁 さかのひとし
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 394 号
学位授与の日付	昭 和 51 年 3 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 生 物 物 理 学 専 攻
学位論文題目	転移 RNA の生合成に関する分子遺伝学的研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 小 関 治 男 教 授 高 浪 満 教 授 由 良 隆

論 文 内 容 の 要 旨

転移 RNA (tRNA) は遺伝子形質発現の過程で核酸上の遺伝情報を蛋白質のアミノ酸配列に翻訳するのに必要な一群の RNA 分子である。約80個程度の塩基からなり、それぞれが特異的な塩基配列と修飾塩基をもつが、いずれもクローバ葉モデルにあてはまるような一般構造をとり、一端に特異的なアミノ酸を結合して分子中央部の3個の塩基(アンチコドン)で遺伝暗号(コドン)に対応する。本研究はこのような構造と機能をもった tRNA 分子が生体内でつくられていく過程を、分子遺伝学的手法を利用して解析しようとしたものである。申請者らはまず大腸菌から突然変異によって tRNA の形成が高温感受性となった株を分離する方法を考案し報告した。この選別法は、チロシン tRNA のサプレッサー活性を利用したものであるが、得られた変異株ではチロシン tRNA のみならず殆んど全ての tRNA の形成が高温で阻害されることが示された。本論文では、この方法で分離された代表的な変異株の1つである TS 241 を用い、その特徴を利用して行なわれた tRNA の生合成過程に関する詳細な解析結果が報告されている。

tRNA は tRNA 遺伝子からつくられるが、その際まず両端に余分な塩基配列をもった RNA 分子として DNA から転写され、のちに余剰部分の切断や塩基の修飾が起きて tRNA が完成するものと考えられている。申請者の用いた TS 241 株では、これらの過程のうち、とくに tRNA 分子の 5' 末端の切断に異常があり、それに関与する酵素 RNase P の変異株であることが証明された。この TS 241 株を高温で培養すると、tRNA の形成が RNase P 依存の工程で阻害されるため種々の tRNA 前駆体が蓄積する。これらの前駆体をポリアクリルアミドゲル電気泳動法によって分離したところ、単一の tRNA に余剰部分の結合した前駆体以外に、複数個(2~6個)の tRNA 分子を含む前駆体が多数同定された。後者には、同一種の tRNA 分子が重複している場合と、異種の tRNA 分子を含む場合とがある。これらの前駆体は、野生型大腸菌からの RNase P を含む抽出液で処理することによって、個々の tRNA 分子の大きさに切断することができる。このようにして各前駆体から *in vitro* で得られた tRNA をアクリルアミドゲル電気泳動法で分離し、それらのフィンガープリント法による解析から、もとの前駆体がどの種の

tRNA に対応するものが同定された。これらの TS 241 株を利用した tRNA 前駆体の解析によって、まず RNase P がどの tRNA 分子の 5' 末端の切断にも一般的に関与していること、そして tRNA 遺伝子の多くが複数個づつ隣接して 1 つの転写単位を形成していることが示された。

ついで上記の *in vitro* での前駆体切断反応を利用し、その詳細を検討した。この実験には TS 241 株からの抽出液が用いられ、適当な高温処理の条件を設定することによって RNase P の活性のみを選択的に失活させたものを利用している。野生型株の抽出液と並行して切断反応生成物を解析した結果、複数個の tRNA 分子を含む前駆体はまず RNase P 以外の酵素によって切断され、つづいて RNase P によって 5' 末端、さらに別の酵素によって 3' 末端が切り揃えられることが明らかになった。既知の RNase P の前に作用する酵素を RNase O、後に作用するものを RNase Q と名づけ、O→P→Q の順に前駆体の切断反応が逐次的に進行することを示唆している。さらに各段階に対応する前駆体を TS 241 株から分離し、それらの修飾塩基をしらべることによって、修飾にもある種の順序があり、たとえばリボチミジン、ジヒドロウリジン、プソイドウリジンなどの修飾は RNase O の作用する以前の前駆体にみられるが、2'-O メチルグアノシンの修飾は RNase P が作用した後で起こることなどが示された。最後にこれらの解析結果を総合し、tRNA の生合成過程について統一的なモデルを提出している。

論文審査の結果の要旨

転移 RNA (tRNA) は遺伝情報の解読子として蛋白質の生合成に不可欠の重要な生体高分子である。その構造や機能については多くの研究があり、数10種類のものについては既に一次構造が決定されている。申請者の研究は、このような tRNA 分子が生合成される過程を明らかにしようとするものであり、分子遺伝学的手法を利用することによって多くの新しい知見を得ている。まず大腸菌から条件致死突然変異株として、高温で tRNA 合成の停止する株を分離する方法を考案した。この方法は非常に巧妙なものであり、得られた変異株と共に高く評価されよう。そしてこのようにして分離した株を利用して、tRNA 生合成の研究が大きく展開された。本論文では、とくに RNase P の変異株について詳しく述べられているが、まずこの RNase P が大腸菌 tRNA の 5' 末端を正確に切り揃える過程に一般的に関与していることを示した。つぎにこの変異株が蓄積する tRNA 前駆体を詳細に解析し、tRNA 遺伝子がそれぞれ単独で転写されるのではなく、むしろ複数個の tRNA が連なって 1 つの転写単位をなしていること、そしてこれらの前駆体を tRNA に切断するのに少なくとも三種の酵素 RNase O, P, Q が関与し、しかもこれらが一定の順序で作用していることなどが示された。さらに tRNA にみられる塩基修飾にも切断反応と関連したある順序があることが示唆され、これらの結果を総合して、tRNA 前駆体が DNA から転写されてのち、成熟した tRNA 分子に至る間の一連の過程の概略が推定されるようになった。参考論文も主論文に密接に関連したものであり、ともに申請者のすぐれた研究能力を示している。

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。