

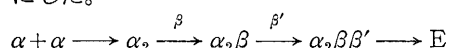
氏 名	齋 藤 綱 男 さいとう つな お
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 453 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	大腸菌 RNA ポリメラーゼ集合機構に関する分子生物学的研究

論文調査委員 (主 査)
教 授 由 良 隆 教 授 小 関 治 男 教 授 大 井 竜 夫

論 文 内 容 の 要 旨

大腸菌 RNA ポリメラーゼは少なくとも四種類のサブユニットから構成され、ホロ酵素（完全酵素）は $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ 構造をもつことが知られている。申請者は、本酵素の形成とその制御の機構を解明する目的で、単離サブユニットからの *in vitro* 活性酵素再構成系でのサブユニット集合機構の詳細と集合中間体および再構成酵素の性状を解析し、また *in vivo* でのサブユニットの動態の解析を行った。

サブユニット集合機構については、申請者の所属した研究グループの研究によって、一定の順序でおきる逐次集合反応であることが示唆されていたが、申請者は、その反応は次のような四段階からなることを明らかにした。



これらの反応のうち、コア酵素サブユニットの全てが集合しながら活性のない未熟型酵素 ($\alpha_2\beta\beta'$) が、温度に依存して活性酵素 (E) に変換する現象に注目した申請者は、その変換に必要な条件を系統的に検討し、比較的生理環境に近い実験条件では活性コア酵素の形成に σ サブユニットが必須であろうと主張できる根拠を提出した。事実、高濃度のグリセリンと塩化カリウム存在下に加温して未熟型酵素をそのまま活性化して形成された酵素は、ヘリックスおよび β シート含量などの骨格構造と RNA 合成の機能の回復は認められるものの、酵素タンパクの微細な構造や転写開始の鋳型特異性では完全には回復していないことが観察された。 σ サブユニット存在下に再構成された酵素の性状の解析が重要であることを申請者は指摘している。

一方、細胞内の RNA ポリメラーゼ各サブユニットの存在状態を分析すると、コア酵素サブユニットのおよそ 80% は大腸菌核様体に、残りの 20% は細胞質にあるが、サブユニット集合中間体は殆んど細胞質にしか検出できない。従って、細胞内では、未熟型酵素の形成までは細胞質で生起し、活性化されると直ちに核様体に結合するか或は核様体に結合して直ちに活性化され転写を開始すると申請者は推論している。この推論が妥当であるひとつの根拠として、共同研究者らが発見したサブユニット集合欠損変異株では、細胞

質画分に多量の集合中間体が蓄積する事実を述べている。

論文審査の結果の要旨

大腸菌 RNA ポリメラーゼは少なくとも四種類のサブユニットからなる $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ 構造をもつ酵素である。その複雑な構造は、遺伝情報の転写を触媒する酵素の生理機能の複雑さによく対応したものと考えられ、酵素構造の形成と生体における特異的分子集合に伴う生理機能発現機構解明の素材として最近とみに注目を集めている。また、遺伝情報発現の制御機構解明の立場からも、本酵素の形成機構の解析が期待されていた。申請者は、サブユニット集合とその制御機構の解析を、*in vitro* 及び *in vivo* 両面から追及した。単離サブユニットからの活性酵素の *in vitro* 再構成系では、集合素過程反応をほぼ明らかにした。逐次集合の最終反応である未熟型コア酵素の活性構造への変換機構については今後の課題として残されたが、変換至適条件の検索から σ サブユニットがその反応に必要であろうと示唆している。事実、未熟型コア酵素を σ サブユニットなしに活性化させると、形成された酵素の構造や反応の特異性が自然のコア酵素とは一致しない。申請者が地道な系統的実験の積重ねのなかからサブユニットの集合状態の変換による酵素活性の調節という生体制御の新局面への展望を、切開いた点は高く評価される。

また一方、*in vitro* で得たサブユニット集合機構のモデルを、*in vivo* と照応させる努力の一環として、RNA ポリメラーゼ各サブユニットの細胞内局在性を分析し、集合中間体は全く細胞質に存在することを明らかにした。この観察は、細胞質で形成された未熟型コア酵素の活性化の機構を *in vivo* で解析する端緒になるであろう。酵素タンパク質の細胞内での動態を明らかにすることは今後の生物科学の大きな課題であるが、本研究は転写酵素 RNA ポリメラーゼを素材としてその方向への糸口を切開いた基礎的研究となった。

尚、参考論文で発表された研究成果は大腸菌 DNA 複製調節機構に関する多くの新しい知見を含んでおり、申請者が分子生物学の分野において広い知識と研究能力をもつことを示すに足るものである。

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。