

氏 名	深 田 允 子 ふか だ まさ こ
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 102 号
学位授与の日付	昭 和 41 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 化 学 専 攻
学位論文題目	On the Nature of the Two Components of the Rapidly Labeled Ribonucleic Acid of Animal Cells in Culture (培養動物細胞の速かに合成されるリボ核酸二成分の性質について)
論文調査委員	(主 査) 教 授 田 中 正 三 教 授 波 多 野 博 行 教 授 杉 野 幸 夫

論 文 内 容 の 要 旨

生物の遺伝現象の研究は、近年分子生物学の発展にともなって急速な進展をとげ、細胞核や細胞質にある核酸類の機能やタン白質合成に関係する酵素系の働きなどが次第に解明されて、ほぼその大筋がわかってきた。すなわち、遺伝形質はおもに細胞核にあるデオキシリボ核酸 (DNA) のヌクレオチドの配列に記憶されていて、その情報は、この DNA を型にして合成される伝令リボ核酸 (m-RNA) に写しとられてタン白質合成の場であるミクロゾームに運ばれ、ここで細胞質に含まれている転移リボ核酸 (t-RNA) やポリゾームの助けをかりて、タン白合成酵素が m-RNA の担う情報をアミノ酸の配列に読みかえながら、遺伝型質の表現型に直接つながる酵素タン白につくりかえていくというのである。

しかしながら、DNA からタン白質へまでの情報伝達の機構の詳細については、なお明らかでないところが少なくなく、また、今迄の成果が比較的取り扱いの容易な微生物を試料としてえられたものが多く、高等動植物の細胞における知見が要望されてきていた。

申請者の学位申請論文は、ヒトの羊膜由来の FL 細胞を試料として、情報伝達にあずかる代謝回転の早い RNA の存在を認めてその性質について詳細な研究を行ない、微生物の細胞と異なり FL 細胞にはこの種の RNA が2種あって、その1つは所謂 m-RNA であり、他はリボゾーム RNA (r-RNA) の前駆物質であることを明らかにしたものである。

実験には、組成をやや改変した Eagle 培地で培養した FL 細胞を用い、核酸類は参考論文その5の方法により細胞を Sodium dodecylsulfate-phenol 混液で抽出し、メチル化アルブミンを用いるカラムクロマトグラフィーによって分画し、DNA・r-RNA・t-RNA その他の RNA に分けた。培養に際し、予め ^{32}P または ^{14}C -ウリジンを培地に加えておくと、30分間以内の培養では DNA・r-RNA および t-RNA はほとんど放射能をもたないが、これらのほかに強い放射能を示す2つの RNA がえられる。これらは急速にラベルされた RNA の意味で q_1 -RNA および q_2 -RNA と名づけられたが、これらのもつ放射能は培養時間を変えると著しく変動し、 q_2 -RNA の放射能は90分 (1/16世代時間) で全く消失する。し

かし、 q_1 -RNA はやや安定でその放射能は3時間は変化せず、その後次第に r -RNA へ移行する。このように特に q_2 -RNA は代謝回転が極めて速いことがわかるが、このことは、さらに、核酸合成の阻害剤である Actinomycin による“chasing”の実験によっても確かめられた。(参考論文その2)

つぎに、シロ糖溶液による濃度勾配遠心分離法で q_1 -RNA と q_2 -RNA とを精製して種々の性質をしらべると、その沈降定数は q_1 -RNA は 42S, q_2 -RNA は 50~55S で、これらの値は FL 細胞に発見される2つの r -RNA (r_1 -RNA および r_2 -RNA) のいずれもより大であり、また、常法によってしらべた塩基組成はつぎの表のように、 q_2 -RNA は FL 細胞の DNA と相補的な組成をもち、 q_1 -RNA は r_1 - および r_2 -RNA と近似する値を示した。(参考論文その1)

FL 細胞核酸の塩基組成 (モル比)

	アデニン	ウラシル	チ ミ ン	グアニン	シトシン
r_1 -RNA(18S)	19.4	19.4		34.1	27.5
r_2 -RNA(31S)	17.9	18.8		37.9	28.1
q_1 -RNA(42S)	17.8	22.7		31.7	28.1
q_2 -RNA(50~55S)	29.7	30.3		19.9	19.4
DNA	27.7		30.5	20.5	21.3

また、これらの RNA を 5mM $MgCl_2$ 溶液として、膵臓のリボヌクレアーゼ (RNase) を作用させると q_1 -RNA は RNA と同程度の分解をうけ、両者は内部構造でも似ていることがうかがえるが、 q_2 -RNA は RNase に強い抵抗を示し、 q_1 -RNA や r -RNA とは高次構造においても異なることがわかった。

そこで、さらに Hybridization 法と DNA- 寒天カラム法との2つの方法を用いて、FL 細胞・大腸菌・バクテリオファージ T_2 などの DNA と q_1 -RNA および q_2 -RNA の塩基配列の相補性をしらべた。すなわち、前法では予め $100^\circ C$ に15分間加熱して二重らせん構造を破壊した DNA に、 ^{32}P でラベルした q_1 -RNA または q_2 -RNA を混じ、 $60^\circ C$ に15時間放置したあと RNase を作用させて、相補結合していない RNA の部分を分解除去し、DNA に残存しているリボヌクレオチドを放射能測定によって定量した。また、寒天カラム法では変性させた DNA の溶液に寒天を加えてつくったゲルに、 ^{32}P ラベルの RNA を混じて $60^\circ C$ に15時間放置して得た寒天カラムを、濃度と温度とを異にする塩化ナトリウム-クエン酸ナトリウム混液で溶出し、DNA と結合している RNA を定量した。これらの実験の結果として、(1) q_1 -RNA および q_2 -RNA は FL 細胞の DNA とは結合するが、大腸菌やバクテリオファージ T_2 の DNA とは結合しない、(2) DNA と q_1 -RNA と q_2 -RNA との結合の度合は後者の方が遙かに高い、(3) q_2 -RNA と DNA との結合は FL 細胞の r -RNA や大腸菌の RNA が共存してもほとんど影響をうけない、(4) q_1 -RNA と DNA との結合は FL 細胞の RNA が共存すると、80%以上の妨害をうける、(5) q_1 -RNA と DNA との結合に r -RNA 以外の FL 細胞の RNA や大腸菌の RNA は影響をもたないことなどが判明した。

つぎに、ミクロゾームにおけるタン白質の生合成に際して q_1 -RNA および q_2 -RNA がアミノ酸配列をきめる鋳型としての機能をもつやいなやを、大腸菌の無細胞タン白合成系を利用して、 ^{14}C ラベルのアミノ酸のタン白質へのとり込みによってしらべたところ、 q_2 -RNA のみならず q_1 -RNA も鋳型活性をもつ

ことが証明された。

これらの諸事実を総括して、申請者は q_2 -RNA こそは FL 細胞の伝令 RNA であり、また、 q_1 -RNA は、大腸菌で認められている未熟な r-RNA と同じように、成熟して r_1 -RNA と r_2 -RNA になる前駆物質であり、これのもつ鋳型活性はリボゾームのタン白質合成に関連するものと推論している。

論文審査の結果の要旨

生物の遺伝現象は、デオキシリボ核酸 (DNA) に記憶されている遺伝形質の情報が、伝令リボ核酸 (m-RNA) に写しとられてミクロゾームへ運ばれ、ここで情報はポリゾームや転移 RNA (t-RNA) の協働のもとにアミノ酸の配列に転訳されながら、タン白合成酵素によって、形質をきめる特異タン白質に合成されることと説明されている。しかしながら、この情報伝達の過程の詳細に関してはまだ解明の不十分なところもあり、また、特に高等生物の細胞におけるこの種の知見は必ずしも多いとはいえない。

申請者の研究論文は、特にヒトの羊膜由来の FL 細胞には、DNA、リボゾーム RNA (r-RNA)、t-RNA などのほかに、放射性のリン酸やウリジンをとり込ませると速かにラベルされる 2 種の RNA が存在することを認めて、これらを分離精製して性質を詳細に研究し、遺伝情報伝達過程におけるこれらの RNA の役割を明らかにしようとしたものである。

核酸の抽出には Sodium dodecylsulfate-phenol 混液が用いられ、分画にはメチル化アルブミンのカラムクロマトグラフィーが行なわれているが、これで分離された 2 つの代謝回転の早い RNA は、その安定性・沈降定数・塩基組成・リボヌクレアーゼに対する感受性などが著しく異なっており、塩基組成からみると、特に代謝回転の早い方の RNA は DNA と相補的であり、やや安定な方の RNA は FL 細胞の r-RNA に似ている。これらの RNA については、さらに、Hybridization 法と寒天カラム法とによって FL 細胞のみならず大腸菌やバクテリオファージ T_2 の DNA との塩基配列の相補性やその相補結合に対する他の RNA の妨害作用などが詳細にしらべられていて、不安定な方の RNA は FL 細胞の DNA と特異的に Hybridize するものであり、やや安定な方の RNA は DNA との相補結合に際して FL 細胞の r-RNA と競合することが明らかにされている。また、この 2 つの RNA がリボゾームにおけるタン白質の生合成に際してアミノ酸配列を決定する鋳型としての活性をもつやいなやが、大腸菌の無細胞タン白合成酵素系を利用する放射性アミノ酸のとり込みでしらべられて、この両者ともに鋳型としての機能をもつことが証明されている。これらの研究結果を総合して、申請者は、代謝回転の極めて速かな方の RNA は所謂伝令 RNA であり、やや安定な方の RNA は成熟してリボゾームの RNA となる前駆物質であると推論している。

この研究は遺伝情報の伝達過程における未解明部をうづめる貴重な知見であり、遺伝生化学の発展に寄与するところが大きい。

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。