

氏 名	小 平 美 江 子 こ だいら み え こ
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 667 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 56 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	大腸菌における supE-B 領域の tRNA 遺伝子配列

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

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塩基配列をタンパク質上のアミノ酸配列に翻訳するという役割をもった、生体に不可欠の一群の RNA 分子である。61種の遺伝暗号(コドン)に対応して、大腸菌では約50種類の tRNA があり、同一種 tRNA に対する遺伝子重複を考慮して、約100~150個程度の tRNA 遺伝子が存在するものと推定されている。申請者の論文は、このような大腸菌における tRNA 遺伝子の解析に関するものであり、とくに大腸菌染色体上の15分の位置にある supE-B 領域の tRNA 遺伝子群について、その構成、配列、転写方向などを詳細に研究したものである。

以前からこの領域には、ナンセンスコドンの UAA(ochre) にグルタミンを対応させるオーカーサプレッサー su⁺B(supB) や UAG(amber)に同じくグルタミンを対応させるアムバーサプレッサー su⁺2(supE)の存在が知られており、これらがそれぞれ tRNA₁^{Gln}(Gln₁) および tRNA₂^{Gln}(Gln₂) の構造遺伝子であることから、この supE-B 領域はグルタミン tRNA に対する遺伝子群の座位と考えられていた。申請者は、この領域の形質導入ファージを利用し、遺伝学的手法と生化学的手法とを併用しつつ tRNA 遺伝子の解析を進めている。形質導入ファージとしては、この領域の supE を含む部分のみを組込んだ λpsu⁺2 株と、supE-B の全領域を組込んだ λpsu⁰2 株とが用いられた。λpsu⁺2 は、感染によって tRNA_m^{Met} と tRNA₂^{Gln} (su⁺2 型と su⁻2 型)を生産し、λpsu⁰2 は tRNA_m^{Met}, tRNA_x^{Leu}, tRNA₁^{Gln}, tRNA₂^{Gln} の4種の tRNA を生産する。まず、λpsu⁺2 における Gln₂ の遺伝子数を決定するために、この株の su⁺2 遺伝子をオーカーサプレッサーに変異させた後、残りの野生型 Gln₂ 遺伝子がアムバーサプレッサーに変異した株を分離した。そして、この株の生産する tRNA をゲル電気泳動法とフィンガープリント法で解析した結果、もはや野生型の Gln₂ 遺伝子が残存していないことが確認された。すなわち、λpsu⁺2 株のもつ Gln₂ 遺伝子数は2個であることが示された。また、tRNA₂^{Gln} と tRNA_m^{Met} の量比が2:1であることから、Met_m 遺伝子は1個と結論された。次に、サプレッサー活性をもつ Gln₂ 遺伝子に適当な遺伝的マーカーを付し、重複 Gln₂ 遺伝子間の不等交叉などを利用した解析から、これらの遺伝子の配列順序は Met_m-Gln₂(su⁻)-Gln₂(su⁺2)であることが明らかになった。また、用いた遺伝子マーカーが Gln₂ 遺伝子のアンチコドン

からみて 5' 側にある場合と、3' 側にある場合とを比較し、これらの tRNA 遺伝子群の転写方向も決定された。つづいて、supE-B 全領域の形質導入ファージ λ psu² について同様な解析をおこない、この領域に 7 個の tRNA 遺伝子が次の順序に配列していることが明らかにされた；Met_m-Leu_x-Gln₁-Gln₁-Met_m-Gln₂-Gln₂。また転写方向は Met_m から Gln₂ の方向であり、大腸菌染色体上では反時計廻りであることも示されている。

大腸菌では tRNA 遺伝子が数個ずつ隣接して tRNA オペロンを形成する傾向がみられていたが、このような 7 個もの tRNA 遺伝子で 1 つのオペロンが構成されている例はこれが最初である。また内容的にも、3 種の tRNA 遺伝子、Met_m、Gln₁、Gln₂ がそれぞれ重複しており、Gln₁ と Gln₂ は互に関係の深いものである点も考慮して、進化の過程でこのようなオペロンがどのようにして形成されてきたのかを推論する上でも大へん興味深い。考察では、遺伝子が重複した場合にみられる不等交叉の問題などが論じられている。

論文審査の結果の要旨

大腸菌には、それぞれのアミノ酸種を各遺伝暗号に対応させるために約 50 種類の tRNA が存在し、同一 tRNA 種に対する遺伝子重複を考慮して約 100~150 程度の tRNA 遺伝子が存在するものと推定されている。これら一群の tRNA 遺伝子は、一般のタンパク質に対する遺伝子とは種々の面で異なり、独自の遺伝子ファミリーをなすものとして、遺伝学的には大へん興味深い。しかしながら、その解析は必ずしも容易ではなく、これまでの遺伝学的解析はサブレッサー tRNA の遺伝子として同定された数種のものに、ほとんど限定されていた。

申請者は、これらのサブレッサーを利用し、それに隣接する tRNA 遺伝子にまでその解析を拡張する方法を開発した。とくにアムバーサブレッサー su⁺2(supE) とオーカーサブレッサー su⁺B(supB) を含む supE-B 領域について詳細な解析をおこない、この領域に含まれる tRNA 遺伝子の構成とその配列順序を明らかにした。解析には tRNA 遺伝子の特徴が随所に活用されている。たとえばサブレッサー変異が遺伝子の中央にあるアンチコドン部位の一塩基置換であることから、使用するマーカーがその部位から tRNA 上の 5' 側にあるか 3' 側にあるかを利用して、遺伝子の転写方向を決定している。また、tRNA 遺伝子に特有の隣接重複を利用し、重複した相同遺伝子間での不等交叉によって遺伝子配列が決定されている。このように独自の遺伝学的解析法が工夫されている一方、得られた突然変異体、組換え体、欠失体等については、各段階ごとにその生産する tRNA の生化学的解析を併用して確認し、得られた結果は非常に信頼度の高いものとなっている。そしてこれらを総合して、大腸菌染色体上の 15 分の位置にある supE-B 領域には、4 種類の tRNA 種に対する 7 個の遺伝子が、Met_m-Leu_x-Gln₁-Gln₁-Met_m-Gln₂-Gln₂ の順序に、反時計廻りの方向に配列していることが明らかにされた。大腸菌で、このような大きな tRNA 遺伝子のクラスターが検出されたのは本論文が最初であり、遺伝子構成の内容も多くの示唆に富んだ興味深いものである。また、大腸菌では殆どどの遺伝子が単独で存在するのに対し、tRNA 遺伝子では重複の例が多く、重複遺伝子間で特異的に起こる不等交叉の研究も、遺伝学の基本問題として重要なものとなっている。

以上を要約すれば、本論文は tRNA に関する遺伝学的解析について、tRNA の特性を活用した形での解析法を開発し、具体的に得られた特定領域での tRNA 遺伝子の配列結果とともに、この方面での研究に寄与するものとして高く評価される。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。