

氏 名	木 村 稔 き むら のる
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 688 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 dnaA・dnaN 両遺伝子の構造と形質発現に関する 分子遺伝学的研究

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

論 文 内 容 の 要 旨

本研究は、大腸菌染色体 DNA の自己複製を制御する最も重要な過程、すなわち複製開始過程の分子機構解明を目指して出発したものである。まず複製開始の必須要因と推定されている dna A 遺伝子に注目し、それがコードするタンパク質の同定を試みた。そのために、dna A のアンバー（ナンセンス）変異体の分離を行ったが、このとき予想外の成果として、dna A に隣接する新しい複製必須遺伝子 (dna N) を発見した。これら両遺伝子を含有する DNA 領域は、ラムダファージをベクターとする組換え体の形質導入ファージ (λ dna A) として単離されていたので、このファージおよびアンバー変異をもつファージ派生株を活用して両遺伝子の産物タンパク質を同定した。すなわち、宿主大腸菌に前もって紫外線を照射し、菌自体のタンパク質合成を抑制する条件下でファージを感染させ、その DNA によってコードされ合成されるタンパク質を検出した。その結果、dna A がコードするタンパク質は分子量約50,000でやや塩基性であること、dna N のそれは約43,000でほぼ中性であることが推定された。

次いで、 λ dna A などの DNA を抽出精製し、まず dna A・dna N 両遺伝子を含む領域の詳細な制限酵素切断地図を作製したのち、この領域約3,000ヌクレオチド対の塩基配列を Maxam-Gilbert 法によって決定した。また、よく知られている dna A の代表的な変異や、本研究において分離した新しいアンバー変異などの塩基変化も解明され、dna A・dna N 両遺伝子の情報翻訳の読みとり枠の決定に確認を与えた。

その結果、dna A は417個のアミノ酸から成る分子量約47,000の塩基性（等電点 pH 9.5~10.0）のタンパク質をコードし、dna N は366個のアミノ酸から成る40,500のわずかに酸性（pH 6.0~6.5）のタンパク質をコードするものと推定され、上に述べたタンパク質同定の結果とよく一致した。なお両シストロンの転写方向は同一であり、dna A が上流に位置することが判明した。両者は約150塩基対の間隔を置いて隣接するが、この介在領域の構造上の特性および in vitro の転写実験のデータなどは、両遺伝子が一続きのメッセンジャー RNA に共転写される可能性を示唆している。ただし、dna N シストロンの直前にもプロモーターと考えられる塩基配列があり、dna N 独自の転写も可能であることが推測される。大腸

菌の DNA 複製必須遺伝子は10数個知られているが、その DNA 一次構造を明らかにしたのは本研究が最初のものである。

論文審査の結果の要旨

本論文は、大腸菌の染色体 DNA 複製制御機構に関する幾つかの新しい知見を含んでおり、それを要約すると次の3点となる。(1)複製必須要因の新しい遺伝子 dna N を発見したこと、(2)dna A と dna N 両遺伝子の一次構造を解明し、両者の形質発現の調節機構を解析するための貴重な基礎データを提供したこと、(3)両遺伝子によってコードされるタンパク質を同定したことである。

従来 dna A 遺伝子は、大腸菌染色体の複製開始に必須の役割を果たすものと推定されてきたが、その産物タンパク質も不明であり、転写と翻訳の形質発現調節機構もほとんど判っていないかった。従って、大腸菌のような比較的単純な細胞における染色体 DNA に関してさえも、その複製開始の分子機構および生化学反応過程の実体は未だ不明確である。本研究は、この問題に正面から取り組んで顕著な成果をあげ、重要な局面に突破口を開いたものと評価することができる。

また従来知られていなかった dna N 遺伝子を発見したことも重要な成果といえよう。特に dna A と dna N の両遺伝子が共転写される可能性を示唆した結果は注目に値する。本研究の進行と前後して、国内および国外の関連分野において示された研究結果と対比して総合的に解釈すると、現在では dna N がコードするタンパク質は DNA ポリメラーゼⅢのβサブユニットと推定されるに至った。もしも dna A と dna N が共転写されるならば、dna A タンパク質は DNA ポリメラーゼⅢとの間に何らかの機能的関連性を持ち、共同して DNA 複製の制御に関与する可能性が考えられる。本研究の成果に基づき、今後これらの問題が解析されるにつれて、細胞における染色体 DNA の複製制御機構の解明が飛躍的に進展するものと期待される。

なお申請者は、本研究を通じて分子遺伝学における最も基礎的なものから最先端に至る技術と理論を確実に習得したものと思われる。また研究の立案と遂行においても、関連分野の世界的な研究進展の状況を的確に把握し、常に最先端的位置づけを有効に行ってきたものと認めることができる。

以上の審査結果を総合して、本論文が理学博士の学位取得に十分な内容をもつものと結論した。