OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	試験管内におけるファージGARNA複製系の確立
Author(s)	米崎, 哲朗
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24594
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【18】

氏名・(本籍)	米崎哲朗
学位の種類	理学博士
学位記番号	第4221号
学位授与の日付	昭和53年3月25日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**試験管内におけるファージGARNA複製系の確立**
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 倉橋 潔 教授 松原 謙一 助教授 小川 英行

論文内容の要旨

RNAファージ第Ⅱグループに属するGAファージは，第Ⅲグループに属するQβファージとは血清学的に異なり，しかもGARNAはQβRNA複製系においては複製されないことが知られている。一方，ファージRNA複製機構に関する研究は従来，試験管内における唯一の複製系であるQβRNA複製系を用いてなされてきた。しかし，RNA複製における，より詳細な，かつより普遍的な概念を構築するためには他のファージRNA複製系を確立することが不可欠であると考えられる。本研究は，この観点から，試験管内におけるファージGARNA複製系の確立を行なったものである。

HarunaとSpiegelmanによりQβファージに用いられた原法を改変した方法によって，GAファージの感染した大腸菌からRNA依存RNA合成酵素を単離した。GAレプリカーゼと命名されたこの酵素は，さらにDEAEセルロースクロマトグラフィー，グリセロール濃度勾配遠心，次いでリン酸セルロースクロマトグラフィーにより均一な段階にまで精製された。GAレプリカーゼは分子量の異なる4つのサブユニットから成っており，これらはそれぞれ，リボソームタンパクSI（サブユニットⅠ），タンパク合成伸長因子EF—Tu（サブユニットⅢ），EF—Ts（サブユニットⅣ）そしてGAファージに特異的なタンパク（サブユニットⅡ）であることが示された。

この酵素によるRNA合成反応は，鋳型RNAの存在に完全な依存性を示すが，鋳型となるRNAに対しては特異性のあることが明らかとなった。即ち，GARNAを含め，GAファージと同じ第Ⅱグループのファージや近縁の第Ⅰグループのファージの RNAはこの酵素による合成反応に高い鋳型活性をもつが，第Ⅲグループファージの RNAやファージ以外の RNAは全く活性を示さない。さらに，第Ⅳグループファージの RNAは中間的な活性を示した。

一方，GAレプリカーゼによるRNA合成反応は早期に停止してしまい，合成量は加えた鋳型RNA量の20%に満たない。また，生体内の条件に近いと思われるイオン強度では著しい阻害を受けた。さらに，反応産物は鋳型RNAと同じ沈降定数をもってはいるが，鋳型RNAに相補的なRNAのみであることから，この合成系はファージRNAが合成される段階にまで至っていないことが明らかとなった。そこで，この系でファージRNA合成まで行なわせるに必要な因子の探索を行ない，実際に単離することができた。

この因子は宿主菌由来であり，GA—HF (Host factors for GA RNA replication) と命名された。GA—HFは2つの成分から成り，これらはいずれもQβRNA複製に必須な因子であるHFIとは異なることが示された。

GA—HFを添加することにより，GAレプリカーゼのRNA合成反応は50—100倍促進され，しかも長時間持続するようになる。また，生体条件に近いイオン強度下でも阻害を受けることなく反応が進行するようになった。さらに，この反応系では，相補的RNAばかりでなくファージRNAも合成されることが明らかになったことから，ここで完全な複製系としての確立がなされたと考えられる。

この複製系では，GARNAの他にR17（第Ⅰグループ）RNAも鋳型活性を示したが，QβRNA，SP（第Ⅳグループ）RNA及び大腸菌RNAは全く活性を示さなかった。

論文の審査結果の要旨

遺伝子としての活性をもつウィルスRNAがどの様な機構により複製されるかという問題は，大腸菌を宿主とするRNAファージが発見されたことにより研究され始めた。1965年HarunaとSpiegelmanにより試験管内におけるQβファージのRNA複製系が確立されたことからより詳細な解析が可能になり，その結果ファージRNA複製系における次のような特徴が明らかとなってきた。1）顕著な鋳型RNAの選択性。2）複製途上におけるファージRNAとこれに相補的なRNAとの間の二重鎖形成のないこと。しかしこれらの特徴はいずれもファージRNAが複雑な高次構造をもつことによって生ずるものである。そのためQβ RNA複製系を唯一の研究対象としてきた従来の研究からは，より詳細で且より具体的な知見を殆んど得ることができなかった。従ってファージRNAの複製機構を解明する上で，より詳細で且より普遍的な概念に到達するためには，Qβ RNA複製系と比較研究し得るような他のファージRNAの複製系の確立が不可欠であると考えられていた。

米崎哲朗君の研究は上記の目的に適したGAファージを用いて，QβRNA複製系と対比できる試験管内におけるGA-RNA複製系の確立を行なったものである。彼のGA-RNA複製系の性質を要約すると次のようになる。

1）GA-RNA複製系は鋳型RNA，GAレプリカーゼ及び複製に必要な宿主因子GA-HFから成る。この系で鋳型となるRNAはGAファージの属する第Ⅱグループ及び第Ⅰグループのファージ RNAに限られ，Qβの属する第Ⅲグループや第Ⅳグループの RNAなどは複製しないというQβの系とは正反

対だが，顕著な鋳型RNA選択性を示す。

2）GAレプリカーゼは$Q\beta$レプリカーゼ同様，4つのサブユニットからなり，その内の1つがファージ由来の特異的なものである。GAレプリカゼはGA-HFが存在しなくても，GARNAに相補的なRNAの合成を行なえる。

3）GA-HFは$Q\beta$のHFI（1成分）と異なり，2成分から成る因子である。

以上のように試験管内におけるGA-RNA複製系が完全に確立されたことは今後のファージRNA複製研究にとって非常に画期的な研究対象が提出されたことを意味するもので，理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。