

Title	ANALYSIS OF THE REGULATORY MECHANISM OF THE SOS-FUNCTIONS
Author(s)	Horii, Toshihiro
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24599
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	ほり 堀	い 井	とし 俊	ひろ 宏
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	5	4	3
学位授与の日付	昭和56年9月30日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	SOS機能制御機構の解析			
論文審査委員	(主査) 教授	小川 英行		
	教授	松原 謙一	教授	松原 央

論 文 内 容 の 要 旨

紫外線照射や突然変異誘発物質等でDNAに傷害を加えると、大腸菌はSOS機能と呼ばれる一連の機能を出すようになる。このSOS機能には、DNAの修復、細胞分裂の抑制、プロフェージ誘発、recA蛋白質の合成の増加、突然変異誘発、コリシン産生の誘発などが含まれ、それらに関連した様々な遺伝子が秩序正しく発現されることから、その制御機構に興味を持たれている。SOS機能の発現制御には、recA及びlexAという2つの遺伝子が必須である。recA蛋白はある活性化過程を経た後蛋白分解酵素としてSOS機能の誘発に、またlexA蛋白はリプレッサーとしてSOS機能の抑制にそれぞれ関与するものと考えられてる。本研究ではSOS機能の同調的発現を支配する機構を解析するために、薬剤耐性プラスミド上にそれぞれクローニングされたrecA及びlexA遺伝子を用いて、それらの全塩基配列を決定した。これら遺伝子の転写開始部位は試験管内で合成させたmRNAの5'末端の塩基配列から、また構造領域は個々の遺伝子産物のアミノ酸含量及びN末端側のアミノ酸配列の解析から明らかとなった。

その結果、recA遺伝子の構造領域は1059塩基対からなり353個のアミノ酸をコードするが、精製したrecA蛋白は開始コドンAUGのfMetを介せず、352個のアミノ酸からなる分子量37,840の蛋白であった。また生体内で生成されるrecAmRNAをフィルターバインディング法により解析した結果、recAmRNAは約1kbの大ききでモノシストロニックに転写され、その発現は転写レベルで制御されており誘発されるとmRNAの合成速度は10—20倍増加することが明らかとなった。lexA遺伝子の構造領域は606塩基対により構成され、202個のアミノ酸を含む分子量22,358の蛋白をコードしていた。lexA蛋白はSOS機能に関与するいくつかの遺伝子(recA遺伝子及びlexA遺伝子それ自身も含む)

のリプレッサーと考えられているが、*recA*及び*lexA*遺伝子の制御領域の塩基配列を比較した結果、相同な9塩基対の配列-ATACNGTAT-を2個含む共通な配列が両者に見い出された。この共通な塩基配列は*lexA*蛋白の結合部位と考えられる。

*lexA*遺伝子は自己制御する遺伝子であるため、細胞内での*lexA*蛋白の量は極く僅かである。そこで合成量を増加させるため、ラクトースオペロンのプロモーターと*lexA*遺伝子の構造領域を結合し、効率よく*lexA*蛋白を合成する遺伝子を作り出した。これを利用して*lexA*蛋白を純度96%以上に精製した。Robertsらにより、精製した入リプレッサーがATP、一本鎖DNAの存在下で*recA*蛋白により特異的に切断されることが報告されているが、精製した*lexA*蛋白について解析を行なった結果、*lexA*蛋白はAla⁸⁴とGly⁸⁵の間で*recA*蛋白により切質され、分子量9,201と13,175の2つのペプチドに別れることが明らかとなった。*lexA*蛋白及び入リプレッサーの切断部位周辺のアミノ酸配列を比較した結果、切断部位からアミノ末端側に11残基より形成される相同のアミノ酸配列が見い出された。

以上の結果からSOS機能発現の制御機構は次の様に推論される。すなわち、SOS機能に關与する遺伝子の中で*lexA*蛋白により抑制される遺伝子は、その制御部位に共通な9塩基対によって構成されるオペレーターを持ち、*lexA*蛋白の不活化により同時に発現する。またSOS機能制御に關するリプレッサー蛋白には、*recA*蛋白の認識部位と考えられる11残基の共通なアミノ酸配列が存在し、活性化された*recA*蛋白によって同時に不活化されることにより、それらによって抑制されていた遺伝子も発現する。この様にしてSOS機能は同調的に制御されていると考えられる。

論文の審査結果の要旨

原核細胞、真核細胞を問わず、種々の要因により染色体DNAに障害がもたらされると、細胞はSOS機能と総称される一連の細胞反応を発現するが、SOS機能はそれを惹き起こす要因の多様性、発現される細胞反応の多様性と同時に、それらが同調的に発現するところから、その遺伝子制御機構に多くの関心が寄せられている。

SOS機能の研究は従来、多くの遺伝的解析が大腸菌を用いて行なわれており、*recA*、*lexA*という二つの遺伝子とその発現制御に必須であることが解明されている。堀井君はこの制御機構を分子レベルで解析するため、プラスミドにクローニングされた*recA*、*lexA*遺伝子を用いて、DNA上にそれぞれの遺伝子の厳密な位置付けを行ない、次にそれぞれの遺伝子の全塩基配列を決定した。従来より*lexA*遺伝子産物が*recA*、*lexA*遺伝子をはじめSOS機能に關与する遺伝子群のリプレッサーであるとするモデルが提唱されていたが、堀井君は*recA*、*lexA*両遺伝子の制御領域の塩基配列を比較することにより、*lexA*たんぱく質の結合部位と考えられる相似な塩基配列の存在を実証した。また塩基配列を決定することにより得られた*recA*たんぱく質、*lexA*たんぱく質のアミノ酸一次構造は、たんぱく質の構造研究の分野にも貢献するものである。

一方、遺伝子操作技術を応用して*lexA*たんぱく質を多量に合成するシステムを開発し、同たんぱ

く質を高純度に精製した。次にrecAたんぱく質がlexAたんぱく質を特異的な部位で切断することを示し、その切断部位のアミノ酸配列と、同様にrecAたんぱく質によって切断されるラムダファージリプレッサーのアミノ酸配列を比較した。その結果、recAたんぱく質の特異的切断に寄与すると考えられる相似なアミノ酸配列を見出した。

以上、多様なSOS反応の発現抑制および誘発に機能する二種類の共通性、すなわち遺伝子制御領域に存在する共通な塩基配列及び、リプレッサーたんぱく質に存在する共通なアミノ酸配列を発見し、SOS機能の発現制御機構に統一的な解釈を与えた。

これらの研究業績はそれぞれ画期的なものであり、理学博士の学位論文として十分価値のあるものと認める。