The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Studies on Regulation of Genetic Transcription and Messenger RNA Decay in Escherichia coli.
Author(s)	Yamamoto, Tadashi
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27734
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)	山本　雅（やまもと　ただし）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 3869 号
学位授与の日付	昭和52年3月25日
学位授与の要件	理学研究科　生理学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**大腸菌メッセンジャーRNAの合成と崩壊の制御に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 松代　愛三 (副査) 教授 松原　謙一　助教授 小川　英行　助教授 今本　文男

論文内容の要旨

遺伝子の形質発現の量的調節は，転写レベル，翻訳レベル，或いはmRNA分解のレベルを通じて，行われ得る。後者の2様式による制御は，いわゆるpost-transcriptional controlであって，特に有核細胞系では重要な制御様式であると言われて来たが，その機構については現在でも殆んど理解されていない。主にλtrpファージ感染菌のtrp m RNAを特異的に，分析，定量し得る系を用いてこのpost-transcriptional controlの機構の解明に重点をおいて研究して来た。

我々が用いているλtrpファージでは，大腸菌のトリプトファンtrpオペロンが，λファージの初期遺伝子群の一部と置換して転入し，λファージのN遺伝子に接続している。このλtrpファージのtrpオペロンは，ファージのN遺伝子のプロモーター(P_L)とtrpオペロンの本来のプロモーター(Ptrp)とから二重に転写され，それらの転写様式は，お互いに著しく，異っている。一言にして言えば，P_Lからのtrp転写は大腸菌のオペロンのいくつかの転写（終結）信号を認識できないし，蛋白合成過程との共役現象(polarity)を喪失している。普通Ptrpからのtrp転写は（大腸菌の多くのオペロン転写と同様に）共役型で蛋白合成の因子（恐らくリボゾームの蛋白因子）を要求するがP_Lからのtrp転写は，非共役型に変わってしまっている。これは，P_Lから転写を開始した，RNAポリメラーゼがファージのN蛋白で修飾され蛋白合成因子を必要としない性質に変っているためであることが分った。N遺伝子の変異株を用いて，N蛋白の機能が失われている条件下で，P_LからとPtrpからのtrp転写を比較して調べた所，trpオペロン内にP_Lからの転写がprematureに終結する信号（t_Nと命名）が存在することが分った。この新しい転写終結信号は，Ptrpからの転写によっては，認識されないことが分った。この事は，P_Lからの，trpオペロンの転写はN蛋白による修飾を免れてもなおかつ転写終結信号の認識能

においてPtrpからの転写と異っている事を示していて，大腸菌でも遺伝子を転写中のRNAポリメラーゼは機能的に多様であり，それは，恐らく，幾種類かの補助因子（蛋白性）と会合しているためであろうと思われる。

次に，上述のλtrpファージの系を用いてtrp m RNA崩壊の制御機構に関する研究を行った。λtrpファージのPtrpから合成されるtrp m RNA分子(Ptrp-trp m RNA)は，大腸菌染色体から合成されるtrp m RNA分子と同様に不安定であるが，P_Lから合成されるtrp mRNA分子(P_L-trp m RNA)は非常に安定であって，その安定性は感染後の時間経過と共に増大する。この安定化現象にファージの産生する蛋白が関与しているかどうかを調べた所，tof遺伝子の産物が，P_L-trp m RNAの安定化に貢献していることが判明した。P_L-trp m RNA分子の5′末端側にはN-m RNAがcovalent結合しているので，この点において，P_L-trp m RNAの化学的性質が，Ptrp-trp m RNAと異なっていて，前者が特異的に，安定化していると判断された。以上の事実は大腸菌では，m RNA分子の5′末端側の化学的構造がその分子の分解の律速段階を決定していることを示している。tof蛋白がどのような因子に作用してm RNA分解率を変化させているのかに興味がもたれる。

このように化学的に安定なmRNA分子種は，大腸菌自身にも，存在することが見出された。安定なm RNA分子種が，一般に安定といわれている有核細胞のm RNA分子のように5′末端にm^7GpppNpのようなCap構造を有しているかどうかを探索したが，そのような構造は，見出されなかった。しかしながら，安定な，m RNA分子の少なくともいくらかのものは，5′末端がpppAp, pppGpの構造を有したままであることが観察された。どのような要因によって，分子の5′末端が保護されているのかは，速やかに解明される問題であろう。

論文の審査結果の要旨

遺伝子の情報発見については，Jacob, Monodのオペロン説をはじめとし，特に転写開始の調節機構について，よく研究が進められてきた。しかし，転写終止の機構が，そのオペロン自身，或は更に下流に位置する遺伝子群の発現を調節するに重要であり，又，メッセンジャーRNAの翻訳率とか，分解率を調節する機構が，情報発現に重要な役割を果している事は言うまでもないことである。

山本君は，以上の観点から，転写終止機構と，m RNA崩壊の機構について研究を進め，それらを3つの部分に分けて，報告している。

第1部では，λtrpファージ感染菌において，λファージのプロモーターから，trp mRNA合成が行われる場合に，RNA合成酵素が，λN蛋白で，修飾され，種々の転写終止能を失っていることに注目した。N蛋白による修飾を解除した場合についての転写様式を調べ，トリプトファンオペロン内に特殊な転写終止域が存在することを見出し，その位置の塩基配列を推定した。更にこの位置での転写終止能力は，trp転写が，本来のtrpプロモーターから進む時には，欠失している事を見出し，RNA分解酵素の非一様性を論じている。この考えは，従来から問題にされているオペロン内での極性現象を

理解する上で，大きな貢献をしている。

第2，3部では，mRNA崩壊の機構について重要な知見を報告している。まず，大腸菌mRNAにも安定な種類が存在することを見出した。次に，不安定なtrp mRNA分子の5′末端にλNmRNA segmentを接続することで，m RNAが著しく安定化することを見出し，分子の5′側が，分解率を決定する上で重要な役割を果たしていることを明らかにした。更に，λtof蛋白がこのN-trpmRNA分子を，安定化するのに，貢献していることを見出した。これは種々の機能を有すると思われるtof蛋白機能の1つを明らかにしたことにもなる。次に，安定なmRNA分子の5′側の塩基の特異性を調べ，必ずしも，Eukaryoteで見られるようなm^7GpppXp構造は安定性決定に必要でないことを見出した。この知見は，mRNAの安定化現象のみならず，Prokaryoteと，Eukaryoteを比較する上でも興味深いものである。

以上，山本君の研究は，従来重要であると思われて来たにもかかわらず，解明が成されていなかったpost-transcriptional controlについての分子レベルで種々の重要な知見を与えるものであると共に，以後のこの部門での研究に方向性を与えるものであって，理学博士の学位論文として，十分価値あるものと認める。