

Title	核酸の熱変性に対する銅イオンの影響
Author(s)	日合, 奨
Citation	大阪大学, 1965, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28805">https://hdl.handle.net/11094/28805</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	日	合	奨
	ひ	あい	すずむ
学位の種類	理	学	博 士
学位記番号	第	6 4 1	号
学位授与の日付	昭 和 40 年 3 月 20 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	核酸の熱変性に対する銅イオンの影響		
	(主査)		(副査)
論文審査委員	教 授 本城市次郎	教 授 吉川 秀男	教 授 伊勢村寿三

### 論 文 内 容 の 要 旨

紫外部吸収の増加 (hyperchromicity, 濃色性) によって測定した DNA および RNA の熱変性の遷移温度 ( $T_m$ ) は, 銅イオン濃度を高めるにつれて低下する。例えば *Micrococcus lysodeikticus* の DNA では, 5 ミリモル食塩溶液中では,  $T_m$  は 69 度であるが, これに 0.1 ミリモルの銅イオンを加えたものでは,  $T_m$  は 36 度に下がる。5 ミリモル食塩—0.1 ミリモル銅イオンの溶媒では, 塩基組成の異なる種々の DNA の  $T_m$  は, いずれも 35—36 度で, その塩基組成に依存しないでほぼ一定である。但し  $T_2$  フェージ DNA では, 例外的に  $T_m$  が高く 40 度である。銅イオン存在下で加熱した DNA では, 粘性の低下および光散乱法による分子形の変化を伴い, 明らかに変性している。

銅イオン存在下で 55 度で加熱した DNA では, その濃色性は冷却によって減少しないが, 塩濃度を高めると, 瞬間的にまた完全に濃色性は消失する。EDTA 添加あるいは透析によっても濃色性は失われる。これらの方法で濃色性を失った DNA は, 熱変性温度曲線・クロマト溶出図形・粘度・形質転換能の点からみて, 未変性 DNA に renature (再生) している。

光散乱法では, 銅イオン存在下で加熱した DNA は, 明らかに変性しているが, 分子量は半減せず, double strands は完全に分離していないことが判明した。

用いた DNA のうち, dAT コポリマーは例外的で, 銅イオン存在下では  $T_m$  がかえって高くなる (29 度から 39 度に)。また冷却によって, 銅イオン存在下でも, 濃色性は消失する。

転移 RNA・リボソーム RNA・部分的に変性せしめた DNA では, 銅イオンを加えると, 室温ですら濃色性を示す。未変性 DNA では, このようなことは起らない。

銅イオンはモノマーとしてのヌクレオチドの紫外線部吸収特性に変化を与えない。

銅イオン存在下での核酸の変性と再生 (renaturation) の機構について考察を行なった。

## 論文の審査結果の要旨

日合契君の論文は「核酸の熱変性に対する銅イオンの影響」と題するものである。前に Eichhorn (1962) は DNA の濃色性に対する 2 価カチオンの影響をしらべ、とくに  $\text{Cu}^{2+}$  が遷移温度 ( $T_m$ ) を低下させる効果がいちじるしいことを見出したが、筆者はこのような低温における  $\text{Cu}^{2+}$  の変性効果の性格を明らかにするために一連の実験を行なった。

実験材料にはコウシ胸腺、各種細菌、 $T_2$  フェージなどの DNA、dAT コポリマー、大腸菌の各種 RNA などを 0.05 mM-核酸 P の 5 mM-NaCl 溶液として用い、260  $\mu$ における吸収を測る以外に粘度測定および光散乱測定を行なった。

著者はまず  $\text{CuSO}_4$  を加えた場合と加えない場合とについて、コウシ胸腺 DNA を熱-冷-熱において  $T_m$  を求めたところ、 $\text{Cu}^{2+}$  がいない場合は  $T_m$  が  $70^\circ$  くらいであるのに、0.1 mM- $\text{Cu}^{2+}$  が存在すると  $40^\circ$  に低下すること、またこの濃度の  $\text{Cu}^{2+}$  存在下にみられる濃色性がかなり安定であることがわかった。

次にちがった GC 含量を示す各種 DNA について、いろいろの濃度の  $\text{Cu}^{2+}$  の効果をしらべたところ、いずれも 0.01 mM の濃度では  $T_m$  がほとんど低下せず、それより濃くなると急に低下して 0.1 mM で  $36^\circ$  前後におちつく。ただ dAT コポリマーの場合は  $\text{Cu}^{2+}$  の存在で  $T_m$  がかえってわずかに上昇し、濃色性が冷却によってかなりもどる点がちがっていた。DNA の  $T_m$  は GC 含量に依存して異なるにかかわらず、0.1 mM- $\text{Cu}^{2+}$  の存在でどの DNA の  $T_m$  も  $35-36^\circ$  に集中するのは注目すべき点であるが、ただ  $T_2$  フェージでは少し高い  $40^\circ$  であった。

著者はさらに RNA や部分的に変性した DNA では  $\text{Cu}^{2+}$  の変性効果が室温でみられること、また  $\text{Cu}^{2+}$  存在下の熱変性が NaCl の濃度をあげて除去できることを明らかにした。濃色性の除去にもっとも有効なのは  $\text{Cu}^{2+}$  の除去であって、0.1 mM- $\text{Cu}^{2+}$  の存在で熱変性したコウシ胸腺 DNA を EDTA 処理または透析すると濃色性が消失したが、 $100^\circ$  に加熱した場合は再生が完全でなかった。 $55^\circ$  以下の熱変性の場合に  $\text{Cu}^{2+}$  除去により完全に再生することは、MBSA カラムからの溶出パターンの比較によっても立証できた。

最後に著者は  $\text{Cu}^{2+}$  存在下で熱変性させた DNA の粘度低下が、NaCl 濃度を 0.2 M にあげることでもどることを認め、また光散乱法によって  $\text{Cu}^{2+}$  存在下で加熱した DNA は明らかに変性しているが、分子量には変化がないことから二重鎖が完全に分離していないことを結論した。

以上の実験結果から、 $\text{Cu}^{2+}$  は低い温度で DNA の熱変性をひきおこし、この変性は冷却によってもどらないけれども、 $\text{Cu}^{2+}$  の影響を除けば完全に再生することが明らかになった。著者は恐らく  $\text{Cu}^{2+}$  が核酸の塩基に作用し、水素結合を開裂するなどの機構で濃色性を発現すると考えているが、とにかく  $\text{Cu}^{2+}$  によりひきおこされる変性が完全に可逆的であることはきわめて興味ふかい点であって、これは DNA の変性検定に応用できる便利な方法といえることができる。

これを要するに、著者の論文は核酸の変性および再生について重要な知見を提供するもので、2 篇の参考論文をあわせ考えて十分に博士論文として価値あるものと認める。