The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	T4ファージリゾチームのFrameshift変異の研究 : 二重変異株（eJD13eJD5, eJD14eJD5）の構造研究と2つ及び5つの塩基の挿入について
Author(s)	岡田, 蓁子
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29732
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【6】

氏名・(本籍)	岡田藁子（おかだよしこ）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 1603 号
学位授与の日付	昭和44年3月28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	**T4ファージリゾチームの Frameshift 変異の研究：二重変異株（eJD13eJD5, eJD14eJD5）の構造研究と2つ及び5つの塩基の挿入について**
論文審査委員	(主査) 教授 次田 晧 (副査) 教授 吉川 秀男　助教授 小関 治男

論文内容の要旨

T4ファージをプロフラビンで処理することによって“frameshift”を起したリゾチーム蛋白の構造解析から *in vivo* のアミノ酸コード，m-RNA の読み取りの方向性，更にはこのリゾチームの m-RNA の部分的な塩基配列の推定等の解明を行って来た。このような“frameshift”変異株の分析を増やして行くことにより，すべてのアミノ酸のコードの解明のみならず，m-RNA 或いは DNA の塩基配列を推定することも可能である。ここで *e*JD5 はより新たに2種の二重変異株 *e*JD13*e*JD5, *e*JD14*e*JD5 を分離し，その構造解析の結果より得られた知見を報告する。変異リゾチームの構造解析の結果を野生株及びすでに構造の決められた *e*JD5 のもう一つの変異株 *e*JD5*e*J201 と比較すると次のようになる。

	20					25		
野生株 :	-Lys-	Asp-	Thr-	Glu-	Gly-	Tyr-	Tyr-	Thr-
*e*JD14*e*JD5 :	-Lys-	***Glu-***	***Thr-***	***Gln-***	Gly-	Tyr-	Tyr-	Thr-
*e*JD13*e*JD5 :	-ys-	Asp-	***Lys-***	***Thr-***	***Gln-***	Gly-	Tyr-	Thr-
*e*JD5*e*J201 :	-Lys-	Asp-	Thr-	***Arg-***	***Len-***	***Len-***	***His-***	Tnr-

（変異をおこした部分を italic で示している。）

in vitro のコード表を用い，これらのアミノ酸の変化を考えると，*e*JD14*e*JD5 では *e*JD14 で2つの塩基が挿入され，*e*JD5 で2つの塩基が脱離したと仮定すれば説明され，*e*JD5*e*J201 より得られた *e*JD5 の変異機構が確認された。*e*JD13*e*JD5 ではアミノ酸が1つ増加しているので，DNA の塩基配列の上では3つの塩基が増加していることになり，先に *e*JD5 が2つの塩基の脱離であることが確認されているので，*e*JD13 の変異は5つの塩基の挿入であることを仮定することによって，上記のアミノ酸の増加及び変化を説明することが出来る。これまでの研究では，1つ又は2つの塩基の挿入・脱

離及び4つの塩基の挿入による変異は見出されているが，5つの塩基の挿入による変異は最初の例である。この結果，野生株では，Asp=GAC，変異株では Gln=CAA，Thr=ACA の3つのコードが *in vivo* で利用されていることが判った。現在までの研究では野生株においては3番目の塩基はA又はUが選択的であり，このことは T4 ファージの DNA の AT 含量の高いことが反映していると考えられていたが，Asp において，GAU, GAC の2つのコードの中 GAC が野生株で使われることが示された。又プロフラビンの変異が塩基の欠損より挿入に傾っていることをみつけた。

又，これらの変異株のリゾチームの酵素の比活性は野生株の10%以下であり，22番目の Glu が酵素活性の発現に重要なアミノ酸であることが示唆された。このように，遺伝的修飾法を酵素活性と構造の関係を解明する一つの有力な手段として用いることが出来る。

論文の審査結果の要旨

岡田君の論文は T4 フージのリゾチーム酵素を材料にし，先に得た －2 の frame shift の一重変異株を更にプロフラビンで処理し，2つの二重変異株を得た。一つは＋2をもつもの，他の一つは＋5であることが見出した。方法はこれらの変異株を持つファージを培養し，それからリゾチーム変異蛋白を抽出し，トリプシンと，もう一つの蛋白分解酵素で部分分解を行ない，野生株のリゾチームとの一次構造の違いを分析する。この一次構造の違いからコードのズレを in vitro 系での遺伝子コードや，我々の研究室で仮定された in vivo 系の遺伝子コードをあてはめることによって証明していく。このような作業の後はじめて＋5というズレを発見した。ここで岡田君はプロフラビンで起こさるる「ズレ」を要約してこの変異剤でおこされた変異が11例中1例を除いて全て＋の変異であることを見出し，この変異の機構の原因究明に重要な貢献をした。

又岡田君はここで研究した frame shift 変異株リゾチームの構造中，一つのグルタミン酸が変化した結果，その酵素の比活性が大巾に低下することを見出した。このグルタミン酸が活性に重要な役割りをもつという可能性はグルタミン酸のカルボキシグループが失われグルタミンになった酵素でも比活性の低下が甚しい。これらからこのカルボキシル基が酵素活性に必要な基であるという重要な推論を下している。又新しく血清学的方法を確立し今迄得られたリゾチームの変異株の比活性を広く研究し，該蛋白の比活性とアミノ酸の変化の関係を追究している。

以上のことから岡田君の論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。