Osaka University Knowledge Archive

Title	T4フアージのリゾチームに関するナンセンス変異株の研究
Author(s)	赤星, 映子
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30056
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【1】

氏名・(本籍)	赤星映子（あかぼしえいこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1932 号
学位授与の日付	昭和45年3月30日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**T4 フアージのリゾチームに関するナンセンス変異株の研究**
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 秀男 (副査) 教授 天野 恒久 教授 松代 愛三

論文内容の要旨

〔目　　的〕

64種類のトリヌクレオチドの中には，蛋白合成の終了を規定する3種のナンセンスコードが含まれており，通常の大腸菌ではこのコードのところで蛋白合成は停止する。しかし suppressor 遺伝子（Su^+）をもった特殊な大腸菌では，このコードを一定のアミノ酸としてよみとり蛋白合成は継続する。この際，合成量は100%ではなく，suppression efficiency（以下 S. E. と略す）がかかってくる。Garen らはアルカリ性フォスファターゼのナンセンス変異株より得た酵素のCRM活性を測定し，S. E. が位置により変化していることを示唆した。

本論文では，一次構造が決定されている系を用い，ナンセンスコードの位置を明らかにし，S. E. が場所によって変化していることを確認すると共にその変化の要因を検討することを目的としたものである。

〔方法ならびに成績〕

一次構造が決定されている系としてT4ファージリゾチームを選び，Streisinger により単離されていた3つの amber（ナンセンスコードの一種）変異株（T4 *e*M41, T4 *e*M91, T4 *e*M92）を用いた。

1）amber 変異株に対する amber suppressor の効果

3つの amber 変異株を amber suppressor をもつ $Su\,1^+$, $Su\,2^+$, $Su\,3^+$ 菌を指示菌として plating したところ，T4 *e*M41, T4 *e*M92 は各々に明瞭なプラークを作ったが，T4 *e*M91 は $Su\,3^+$ にのみ明瞭なプラークを作った。このことは *e*M91 の amber の位置はセリン，グルタミンではおき変わり難いことを示している。

2）T4 *e*M91 リゾチームの構造決定

前記の中，T4 *e*M91 ファージを Su 3+ をもつ大腸菌で培養し，550ℓ Lysate より約45mg の精製リゼチームを得た。精製蛋白をトリプシン分解し，Dowex 50 x−2 カラムクロマトグラフイーにより，ペプチドを分離した。野生型の場合と異にするペプチドを解析した結果，138番目のトリプトファンがチロシンに変わっていた。このことは138番目のトリプトファンの位置が amber になっていることを示している。T4 *e*41，T4 *e*M92 に関しては，井上らにより各々126，158番目のトリプトファンの位置が amber に変わっていたことが確認された。

3）位置による S. E. の変化

3つの amber 変異株を Su 3+ または ochre suppressor である Su C+ をもつ大腸菌に培養すると，トリプトファンがチロシンに変わったリゾチームが得られる。この場合，もとの野生型リゾチームとは量的または質的な変化が予想されるので，トリプトファンの位置がチロシンに変わった revertant を対照に用いた。Lysate の酵素活性および免疫活性を測定し，S. E. を次式で求めた。

$$\text{S. E.} = \frac{\text{amber 変異株リゾチームの酵素活性または免疫活性／ファージ数}}{\text{revertant リゾチームの 〃 〃 ／ 〃}} \times 100$$

amber 変異株を Su 3+ 大腸菌に培養した時，37°C における S. E. は，amber の位置126，138，158番目に対し，各々57，21，58%となり，場所により異なっていた。また，126番目の場合のみ，30°Cで38%となり，温度による変化が認められた。

Su C+ 菌で培養した時は，8，7，20%となり，amber が158番目の位置にある時，わずかに高くなっていた。

〔総　　括〕

1）T4 ファージリゾチームには，3つのトリプトファンが含まれているが，138番目のトリプトファンはセリン，グルタミンにはおきかわり難く，チロジンにはおきかわる。このことから，このトリプトファンが卵白リゾチームの場合と同様，活性発現に重要な役割を演じているものと推測される。

2）T4 ファージリゾチームの3つのトリプトファンの位置がそれぞれ amber に変化している3つの変異株を用いて，S. E. を調べたところ，amber の位置により，また，温度によっても変化した。このことは，位置によっては S. E. が非常に低くなりうる可能性を暗示しており，蛋白合成における読み終りの機構とも関係してくるのではないかと考えている。S. E. を規定する要因としては，amber のコードの近くの塩基配列，核酸の高次構造，複雑な蛋白合成系の影響等が考えられる。

論文の審査結果の要旨

3ケの nucleotide が1つのアミノ酸を規定する64種のコードンの中に amber (UAG), ochre (UAA), opal (UGA) という3種のナンセンスコードンがある。普通の大腸菌ではこれらのナン

センスコードンのところで蛋白の合成がとまるが，suppressor gene (Su^+) という遺伝子をもった大腸菌ではこれらのナンセンスコードンも一定のアミノ酸としてよみとられ，蛋白合成が継続する。しかしその場合蛋白の合成量は 100% ではなく，ある程度の抑制がかかる。その度合を suppression efficiency (S. E.) という。

赤星君はすでは第一次構造の決定している T 4 ファージのリゾチームに関する 3 ケの amber mutant，すなわち 126，138 および158番目のトリプトファンが amber に変化したものを用い，主として $Su\,3^+$ と $Su\,C^+$ という suppressor gene をもつ大腸菌において合成されたリゾチーム（これらの場合 amber はチロシンとしてよみとられる）の酵素活性と免疫活性を上記の amber が実際にチロジンに変った revertant を対照として S. E. を比較した。その結果はほぼ 158＞126＞138の順序であった。

同君はさらに温度による S. E. の変化や酵素活性と免疫活性の比について詳細な解析を行い，トリプトファンの位置によりリゾチーム活性に変化のおこることを見出している。特に 138 番目のトリプトファンおよびその周辺のアミノ酸が酵素活性に重要な役割を演じることを認めている。

以上の研究は蛋白合成がどのような機構で停止するかまた合成が継続するか，あるいは蛋白のどの部分が酸素活性に重要であるかなどの諸問題を解明する上に興味深い知見を与えたものと考えられる。