The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	抑制遺伝子SU2, SU3の遺伝生化学的解析
Author(s)	青野, 博之
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30069
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

【1】

氏名・(本籍)	青野博之（あおの ひろゆき）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 1916 号
学位授与の日付	昭和45年3月30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	**抑制遺伝子SU2，SU3の遺伝生化学的解析**
論文審査委員	(主査) 教授 富沢 純一 (副査) 教授 殿村 雄治 教授 吉川 秀男

論文内容の要旨

Part I では，トランスファー RNA (tRNA) の構造と機能との相互関係に関する知見を遺伝学的な立場から得る為に大腸菌が有する $tRNA^{tyr}_{su3}$ の構造遺伝子を Phage の染色体の一部に組みこんでいる $\phi80pSU_3^+$ から tRNA の構造遺伝子に突然変異をおこしたと考えられる突然変異株を30種分離した。

突然変異株の分離の方法は次の如くである。今迄に λ phage の amber 突然変異株である $\lambda susP_3^-$ や $\lambda sus\ R_{216}^-$ は抑制遺伝子 $SU2^+$ には感受性があるが $SU3^+$ ではそれがないことが分っていたので，$\phi80pSU_3^+$ とこれ等 λsus の amber 突然変異株との掛け合わせを行ない，その遺伝子組成が $\phi80pSU_3^+i^\lambda susP_6^-R_{216}^-$ であるようなハイブリッド phage を作成した。このハイブリッド phage は $\lambda susP_3^-$ と $\lambda susR_{216}^-$ を有しているので Pm^- 菌中では増殖することが出来ない。従ってもし，ハイブリッド phage の有する $SU3^+$ 遺伝子が突然変異を起こし，その結果 $\lambda susP_3^-$ や $\lambda susR_{216}^-$ が抑制され得るようになれば，$\lambda susP_3^-$ と $\lambda susR_{216}^-$ を有するハイブリッド phage は Pm^- の菌において増殖可能になるはずである。この仮定のもとに我々はそのような突然変異株を分離することを試み Pm^- で増殖可能な phage 30種類を分離することが出来た。次に我々はこの変異性を確かめる為に $T4e^-$ amber 突然変異株に対する抑制効果と Trp-mRNA 合成時における抑制遺伝子の polar 効果に対する違いを調べた。これ等の実験結果から分離された突然変異株は明らかに親株の有する $SU3^+$ のそれとは異った抑制効果を有することが分った。更に Segregation を起こした phage 粒子はもはや Pm^- 菌内では増殖出来なくなっているという観察とを合わせて我々は，$\phi80pSU_3^+i^\lambda susP_3^-R_{216}^-$ phage が Pm^- 菌中で増殖出来るようになったのは $\lambda susP_3^-$ や $\lambda sus\ R_{216}^-$ の復帰突然変異や，又，phage 染色体に突

然変異が起った結果ではなく，ϕ80pSU_3^+ phage に組みこまれていた大腸菌の染色体（SU3+ 遺伝子）上に突然変異がおこったものであることが確認された。次に我々は以上のことを確かめる為に分離した突然変異株の1つを使って生化学的な実験を行った。すなわち，crude な tRNA を突然変異株が lysogenized している菌をマイトマイシンで induction してからのち抽出し，次にその crude な tRNA を ϕ80pSU_3^+ phage の DNA と hybridization の方法で精製することにより ϕ80pSU_3^+i$^\lambda$sus$P_3^-R_{216}^-$ に特異的な tRNA を分離した。この tRNA を使ってアミノ酸受容能を調べた所 SU3+ に特異的である tyrosine の外に新たに glutamic acid がこの tRNA によって受容されることが明らかになった。

以上の結果から我々はハイブリッド phage ϕ80pSU_3^+i$^\lambda P_3^-R_{216}^-$ が Pm^- の上で増殖出来るようになったのは抑制遺伝子 SU3 によって作られる tRNA が tyrosine 特異的から glutamic acid にも特異的であるように変化した為であることが推測出来る。現在我々は SU3 遺伝子によって作られる glutamic acid 特異的 tRNA を大量に分離精製し $tRNA_{am}^{tyr}$ との一次構造上での違いを検討中である。最後に discussion で他の考えられる可能性を論議している。

Part II では，

λsus phage は suppressor gene を有する菌株では増殖出来るが，もっていないところでは増殖出来ない。しかし，ある種のλsus phage は su^+ と str^r の両遺伝子を有する菌株では増殖出来ないことを見い出した。そしてしかもこの str^r の effect は suppressor gene SU2+ に特異的である。更にこの effect は streptomycin の添加によって除去される。同じことをアルカリンフオスファターゼの系を用いても確かめた。この str^r の効果を Part II では discussion した。

論文の審査結果の要旨

蛋白質合成に必要な要素の一つであるアミノ酸転移核酸（tRNA）の構造と機能の相互関係を明らかにする事は単に蛋白質合成の機能の解明はもちろん，蛋白質と核酸との間の特異的相互認識の物理的・化学的様相，あるいは高分子の高次構造と機能との連関性といった現在の分子生物学の重要な問題の解決に手がかりを与えるものである。

青野君は，tRNA の構造と機能との相互関係を遺伝学的に研究するために抑制遺伝子が tRNA の構造遺伝子であるという知見にもとづき，アミノ酸受容能が変化した tRNA 構造遺伝子の突然変異体を抑制遺伝子の抑制効果の変化を指標として分離した。分離の方法は，抑制遺伝子の1つである SU3+ 遺伝子をファージの染色体の一部として組み込んでいるファージ ϕ80pSU_3^+ と，その抑制遺伝子によっては抑制されないような突然変異を有している λ ファージ，λsusP_3^-，λsusR_{216}^- が1本の染色体上に同時に存在するようになったハイブリッドファージ ϕ80pSU_3^+ i$^\lambda\lambda$susP_3^- R_{216}^- をまず調製した。このハイブリッドファージは抑制遺伝子を担っていない SU^- の菌体中では増殖出来ないが，この中から 10^{-10} の頻度で SU^- の菌体中で増殖可能になった突然変異体を分離することが出来た。分離した突然変異体の抑制能力が元の SU3+ のそれと確かに異なったものであることは $T4e_{am}^-$ 突然変異株への抑制能力，トリプトファンオペロンの mRNA

合成における抑制能力を検査することによりたしかめられた。次に分離した突然変異体の一種を用いて突然変異体により特異的に合成される tRNA のアミノ酸受容能を調べた。その為にまず突然変異株が溶原化した SU^- の菌からマイトマイシンでファージを誘発してのち，粗 tRNA フラクションを抽出し，更にこのフラクションから突然変異体に特異的な tRNA 分子を $\phi 80pSU_3^+$ ファージの DNA とのハイブリダイジェーションによって分離精製した。

精製された tRNA を使ってアミノ酸受容能を20種類のアミノ酸について調べた所，突然変異体によって特異的に生産される tRNA は，グルタミン酸を受容することがわかった。このことは更に (^3H)-グルタミール tRNA を，粗 tRNA 抽出液から調製し，それが $\phi 80pSU_3^+$ ファージの DNA とハイブリッドを形成することによって確かめられた。元の $SU3^+$ 遺伝子はナンセンスコードン UAG に対応するタイロシン-tRNA の構造遺伝子であるが，以上の結果から $SU3^+$ 遺伝子が突然変異により，そのアミノ酸特異性がタイロシンからグルタミン酸に変化したような tRNA を合成するようになった tRNA の構造遺伝子に関する突然変異株を分離することが出来たとの結論を得た。

tRNA の構造と機能に関する青野君の論文は博士論文として充分価値あるものと考えられる。