



Title	ラット肝リボソームRNAとその前駆体の構造に関する研究
Author(s)	後藤, 貞夫
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30638
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)	後 藤 貞 夫
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 2 4 9 4 号
学位授与の日付	昭 和 47 年 3 月 25 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	ラット肝リボソームRNAとその前駆体の構造に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 坂 本 幸 哉 (副査) 教 授 北 川 正 保 教 授 次 田 皓

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

我々は数年来ラット肝rRNA及びその前駆体の一次構造即ち塩基組成及びオリゴヌクレオチドについて調べてきた。そこで更に高次構造についての知見を得るためにrRNAの円偏光二色性及びRNAの臍-RNaseによる限定分解産物の電気泳動パターンを調べた。

〔 方 法 〕

1) rRNA及び核小体RNAの抽出

細胞質 RNA は細胞上清画分より直接フェノール-SDS 法で抽出した。核小体RNAはまずChauveau et al の方法で核を分離し、これを超音波処理した後フェノール-SDS法で抽出した。得られたRNAはショ糖密度勾配遠心法を 2 回繰り返して精製した。

2) CD Spectrum の測定

0.1MTris-HCl (pH7.6) の緩衝液中の10. D. 260unit / mlのRNAをLight Path 1 cmでJuanのCD 185を用いて測定した。

〔θ〕の計算は次の式によった。 $[\theta] = 3300 \times \Delta \epsilon$

$$\Delta \epsilon = \frac{D \times M \times S}{C \times L \text{ cm}}$$

3) RNA の限定分解及び分解産物の電気泳動法100μlの反応溶液中にはRNA100μg、0.1M Tris-HCl (pH7.6)、臍-RNase (RNase / RNA = 1 / 2000)、10mM MgCl₂を含み37°C10分間分解を行った。

7.5%ポリアクリルアミド電気泳動は80Vの定電圧で行い、1.5mA / tube、4°Cで3時間半泳動を行った。

〔 成 績 〕

まず限定分解をする際に Mg^{++} イオンの及ぼす影響を見るため、又至適 Mg^{++} イオンの濃度を知るため細胞質28S rRNAを分解する際 Mg^{++} イオン濃度を色々変えてみた。 Mg^{++} イオンが存在しないか、5mMのEDTAが存在するとRNAは分解されて4 S以下の短い鎖長のRNAとなりゲルの先端部の方に泳動される。2 mM、5 mM、10mMの $MgCl_2$ を分解の際添加すると分解産物の基本的な泳動パターンに違いは見られないが Mg^{++} イオンの高い方が起始点に近い方のPeakがゲルの先端部と比較して相対的に高くなっている。これは Mg^{++} のない状態或いはEDTA存在下ではRNAのConformationがUnfoldingしていてRNaseの作用を受易くなっており、従って短い鎖長のRNA Fragmentsになってしまったものと考えられる。しかるに Mg^{++} イオンが存在すると常にある決った大きさのRNA Fragmentsが作られる。これは Mg^{++} イオンの存在下ではRNAが一定のConformationを保っており、しかも、互によく似た構造のくり返しであるため、RNaseによって特定の部位のみが切断されているためと考えられる。このことを確かめるために28S rRNAの溶液中のCD Spectrumを Mg^{++} イオンの存在しない場合と10mMの Mg^{++} イオンの存在する場合について調べてみた。

Mg^{++} イオンのない場合と比較して10mMの Mg^{++} イオンが存在すると270nmのMain Positive bandが265nmにblue shiftしており且つその高さが増加している。又210nmのtroughが深くなっている。RNAに於けるこの様なCDの変化はBase Pairing及びBase Stackingの増加を示しており、先に調べた Mg^{++} イオンの限定分解に及ぼす影響を見た結果とよく一致する。

更にrRNAとその前駆体の10mMの Mg^{++} イオンの存在下の限定分解産物の電気泳動パターンを比較してみた。細胞質28rRNA、核小体35S 及び45S ではPeakの数、位置には大きな違いはみられないが、各Peakの相対的な大きさに違いがみられる。即ち前駆体の分子量が大きくなる程起始点に近い方のPeakが先端部に比較して相対的に大きくなっている。これはより大きなRNA Fragmentsがより多く出来ていることを示しており、前駆体の分子量の大きい方が分子全体としてはよりCompactなConformationを持っているものと考えられる。このことは45S 核小体RNAのCD Spectrumを測定することによって確かめられた。

[総 括]

- 1) 溶液中の28S rRNAはEDTA 存在下或いは Mg^{++} イオンのない状態ではUnfoldingしているが、 Mg^{++} イオン存在下では一定のしかも或種の繰返しをもったConformationをしておりSingle Strandの部分のうち特定の部位しかRNaseの作用を受けない。
- 2) rRNAの前駆体である核小体45S RNAは細胞質28S rRNAと基本的な構造に違いはみられないがよりCompactなConformationを有するためRNaseによる限定分解では大きなFragmentsが相対的により多く得られる。
- 3) 以上の結果はCD Spectrumによって確かめられた。
- 4) ここに述べたRNAの限定分解産物の電気泳動による分析は今後のよりくわしいrRNAの構造の研究の出発点となり得ると考えられる。

論文の審査結果の要旨

本論文はラット肝のrRNAの代謝についての研究を今まで行われていた塩基組成やOligonucleotidesよりも大きなRNA fragmentsのレベルで探求したものである。

これにより核小体の前駆体RNAと28S rRNAは一定のしかもよく似た構造をもつこと、また成熟につれてConformationにUnfoldingを伴うことが明らかとなった。

著者の研究は今後のよりくわしいrRNAの構造と機能に関する研究に寄与するものと認められる。