



Title	ポリアミンが促進するアミノアシル転移RNA合成反応の機構
Author(s)	松崎, 一由
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30708
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

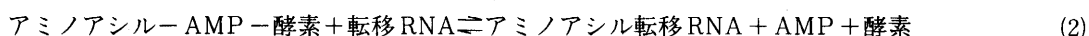
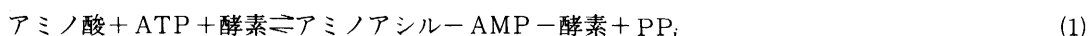
<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・（本籍）	まつ 松	さき 崎	かず 一	よし 由
学 位 の 種 類	理	学	博	士
学 位 記 番 号	第	2 6 7 2	号	
学位授与の日付	昭和 47 年 12 月 20 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	ポリアミンが促進するアミノアシル転移 RNA 合成反応の機構			
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授	本城市次郎		
	(副査) 教 授	次田	皓	助教授 野津 敬一

論 文 内 容 の 要 旨

ポリアミン、例えばスペルミンやスペルミジンは生体内に広く分布するが、RNAや蛋白合成の盛んな組織に高濃度に分布することが知られている。大腸菌では生体中の12~15%のポリアミンがリボソームに存在し、蛋白合成に重要な役割をになっていると考えられている。ポリアミンはリボソーム亜粒子より70Sや100S粒子を形成し、蛋白合成を促進することが明らかにされた。さらに竹田らは蛋白合成の初期反応であるアミノアシル転移RNA合成反応も、スペルミン、スペルミジン、プトレシンなどがマグネシウムに置きかわることを報告した。また、マグネシウム存在下と、ポリアミン存在下において生成されたアミノアシル転移RNAは共にポリペプチド合成のアミノ酸供与体になりうることも報告されている。これらの知見をもとにして、生体内に多量に見出されているポリアミンが、どのような機作によりアミノアシル転移RNAの生成を行うのかを、主として大腸菌B株のイソロイシル転移RNA合成酵素を用いて調べようとした。周知のようにアミノアシル転移RNA合成反応は次に示す2段階反応で進行する。すなわち、



現在まで多くのアミノアシル転移RNA合成反応は(1)の反応を調べることにより研究がなされてきた。つまり $[^{32}\text{P}]$ で標識した PP_i を用いて $[^{32}\text{P}]$ ATPの生成を見る、いわゆる PP_i -ATP交換反応が広く用いられてきた。そこでまずイソロイシル転移RNA生成反応を中心に、ポリアミン存在下における PP_i -ATP交換反応を $[^{32}\text{P}]$ ATPをチャコールに吸着させる方法で調べた。それによると、マグネシウム存在下では PP_i -ATP交換反応は存在するがスペルミン存在下では PP_i -ATP交換反応は見られない。同様の結果がスペルミジン、プトレシンの場合にも得られた。ポリアミン存在下で PP_i -ATP交換反応が見られないことを確認するため、酵素濃度、ATP濃度、アミノ酸濃度などを増減し

て、種々の条件下で実験を行ったが、いずれの場合にも PP_i -ATP交換反応は観察することができなかった。一方各種ポリアミン存在下において生成されるイソロイシル転移RNAの量は、マグネシウム存在下において生成される量とほぼ類似していた。これらの結果より、マグネシウム存在下と同様、ポリアミン存在下においてもイソロイシル転移RNAの生成は起るが、その機作の違うことが示唆された。これらの結果は最近Lofthieldらにより他の酵素において追試確認されている。

ポリアミンによるイソロイシル転移RNA生成の機構をさらに詳細に調べるため、高度に純化された大腸菌B株のイソロイシル転移RNA合成酵素及び種々のポリアミンを用いて実験を行った。その結果まず、直鎖ジアミン ($C=2\sim5$)、トリアミン、テトラミン、ペンタミンは、イソロイシル転移RNAの生成を促進するが、直鎖ジアミン ($C=1$ または $6\sim10$) あるいは、オルト、メタ、パラフェニレンジアミンなどはその効果がないことが知られた。ポリアミンは転移RNAと結合することにより、アミノアシル転移RNAの生成を促進するのではないかと考えられているが、この結果はポリアミンの構造、すなわちアミノ基とアミノ基の間の構造が転移RNAとの結合に寄与していることを示唆している。イソロイシル転移RNAの生成を促進する各種ポリアミンを用いて、 PP_i -ATP交換反応を調べたが、先に述べたようにマグネシウム存在下とは異って、交換反応は見られなかった。この結果は、ダウエックス1カラムクロマトグラフィーによる $[^{32}P]$ ATPの分析の方法を用いても確認された。次に反応(1)において生成されるべきイソロイシル-AMP-酵素複合体の生成の有無をマグネシウム存在下を対照実験として、各種ポリアミン存在下で調べた。

イソロイシン、 $[^3H]$ ATP、酵素を一定条件下で培養し、培養液をセファデックスG-50カラムクロマトグラフィーによって分画し、複合体の生成を調べたが、マグネシウム存在下ではその生成が認められるにもかかわらず、スペルミン存在下ではカチオンの存在しない条件で実験を行った時と同様、複合体の生成は認められなかった。他の種々のポリアミンについても、ほぼ同じ結果が得られた。ATPの γ 位のリン酸が $[^{32}P]$ で標識された $[\gamma-^{32}P]$ ATPと、イソロイシン、酵素とを培養することにより $[\gamma-^{32}P]$ ATPよりの $[^{32}P]PP_i$ の遊離があるかどうかをダウエックス1カラムクロマトグラフィーによって調べたが、マグネシウム存在下では $[^{32}P]PP_i$ が見られるにもかかわらず、ポリミアン存在下では見られなかった。一方、上記反応にさらに転移RNAを加えて実験を行った場合、マグネシウム存在下ではもちろんの事、ポリアミン存在下でも $[^{32}P]PP_i$ の遊離が見られた。しかもポリアミン存在下での $[^{32}P]PP_i$ の量は、 $[\gamma-^{32}P]$ ATPを標識しないATPに、またイソロイシンを $[^{14}C]$ イソロイシンにおきかえて、同条件下で培養した時に生成されるイソロイシル転移RNAの量とほぼ一致した。 $[\gamma-^{32}P]$ ATAと転移RNA、酵素の3者を培養した場合は、マグネシウム及びポリアミンのいずれが存在する場合にも、 $[^{32}P]PP_i$ の遊離は見られなかった。

これらの結果により、ポリアミンの促進するイソロイシル転移RNA生成反応は、現在まで、マグネシウム存在下で進行すると考えられている前述の2段階反応ではなく、イソロイシン、ATP、酵素および転移RNAの4者が同時に反応する、いわゆるConcerted Mechanismによりイソロイシル転移RNAが生成されると考える。

論文の審査結果の要旨

ポリアミンはRNAやタンパクの合成がさかんな組織に高濃度に分布することが知られているが、この研究はポリアミンの存在下でアミノアシル転移RNAの合成反応がどのような機構で行なわれるかをしらべたもので3篇の論文から成っている。

第1篇の論文では大腸菌B株のイソロイシル転移RNA合成酵素について、スペルミンおよび Mg^{++} 存在下でピロリン酸-ATP交換反応の有無を検討した結果、この交換が Mg^{++} 存在下ではみられるが、スペルミン存在下では認められないことを明らかにした。しかも、生成される転移RNAの量にはスペルミンと Mg^{++} とで差がなかったから、交換反応がポリアミンにより抑制されるのではなく、別の反応機構を考えるべきことが示唆された。

第2篇の論文はさらに精製された酵素標品を用いて、ピロリン酸からのイソロイシン依存性ATP生成、ヒドロキシルアミンによるアミノ酸ヒドロキサメートの生成ならびにアミノアシル-AMP-酵素複合体の生成について、スペルミン、スペルミジン、プトレシンなどのポリアミンと Mg^{++} の効果を比較した研究で、いずれの実験でも Mg^{++} は効果があってポリアミンは効果がなく、アミノアシル-AMP-酵素複合体のような中間産物はポリアミン存在下では検出できないことが示された。

第3篇の論文ではこれまでの知見を補強するとともに、ポリアミン存在下ではアミノアシル転移RNAの合成が2段階に区分されないで、いわゆるConcerted mechanismによって進行することを結論している。

この研究はアミノアシル転移RNA合成の反応機構解明に重要な貢献をなすもので、理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認める。