

Title	大腸菌のトリプトファン遺伝子の形質発現におけるナンセンス突然変異の極性効果に関する研究：特に遺伝子の先端部位の役割について
Author(s)	瀬川, 隆
Citation	大阪大学, 1974, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31127
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら 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

【7】

氏名・(本籍)	瀬 川 隆
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 3039 号
学位授与の日付	昭和49年3月25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	大腸菌のトリプトファン遺伝子の形質発現におけるナンセンス突然変異の極性効果に関する研究：特に遺伝子の先端部位の役割について
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 春名 一郎 助教授 今本 文男

論 文 内 容 の 要 旨

数個の遺伝子（シストロン）の形質発現が共通のメッセンジャーRNA（mRNA）分子への転写を介して行われるポリシストロニック・オペロンにおいてある遺伝子内に生じたナンセンス変異の効果が同じオペロンに属する後部の遺伝子にも及び、後者の形質発現も消失する、又は減少する現象（ポーラリティ）がよく知られている。このような変異を持つものではオペロンの転写開始部位（プロモーター）とナンセンス変異の位置の間に対応する短いmRNAが大部分を占め、ナンセンス変異より後部のmRNAが減少しているか、又は検出できない、すなわちポーラリティは転写レベルで起っていることが既に明らかにされている。これはナンセンス変異による蛋白質合成の停止の二次的な結果である。このことは蛋白質合成阻害剤やリボゾームの温度感受性変異株を用いた研究によっても支持される。このナンセンス変異によるポーラリティはオペロンの終りでの転写の正常な終止機構としても働いているとの仮説がある。しかし蛋白質合成阻害剤であるクロラムフェニコルやテトラサイクリンなどの抗生物質を用いた他の研究で大腸菌にはその転写が蛋白質合成の停止の影響を受けるオペロンとそうでないものの二種あることが示唆され、この仮説は成立しない可能性が生じてきた。ここでの研究はこの仮説を確かめ、さらに正常なオペロンの転写の終止やナンセンス変異による異常な転写の終止機構を調べるために行った。

大腸菌を宿主とするバクテリオファージ λ と ϕ 80のハイブリッドでその左側の初期遺伝子群（N遺伝子を含むオペロン）の一部が宿主菌のトリプトファン合成酵素の遺伝子群（トリプトファン・オペロン）と置換したトリプトファン形質導入ファージ λ ptrpが数種得られており、このうちここで用いたものでは置換したトリプトファン・オペロンの転写が本来のプロモーター（ λ ptrp）に始まるものとNオペロンのプロモーター（ λ L）に始まるものの両方によって行われる。この二種の転写の一方を特異的に抑制するような実験条件を設定することができる。すなわち λ ptrpからの転写は培地中に過

剰のL-トリプトファンを加えておくことによって、それを補助因子とするトリプトファン・リプレッサーによって抑えられ、 P_{trp} からのものは宿主菌をファージλの溶原菌にしておくことによってファージ・リプレッサーによって抑えることができる。このファージの持つトリプトファン・オペロンの先頭遺伝子であるE遺伝子内にポーラリティを起すことがよく知られている二種のナンセンス変異(amber変異とochre変異)のうちどちらか一個を遺伝的組換えによって導入し、その変異によるポーラリティを上二種の転写の夫々について調べた。自身のトリプトファン・オペロンを全く欠いた欠失変異株の大腸菌に上のファージを感染させ、一定時間後に合成されるRNAを 3H -ウリジンでパルスラベルした。そして抽出したRNAを各種のトリプトファン形質導入ファージφ80 p_{trp} のDNAとDNA-RNAハイブリッドを生成させることによってトリプトファン・オペロンに特異的なmRNAを検出、定量した。また同時にこのmRNA分子の大きさを蔗糖密度勾配中での沈降によって測った。

これらの実験で P_{trp} からの転写ではE遺伝子内のナンセンス変異によって、転写レベルでのポーラリティが起っており、この結果はトリプトファン・オペロンが本来の場所、すなわち菌の染色体上にある時のそれと全く一致することが示された。これに対して P_L からの転写はナンセンス変異を持つものも野性型のトリプトファン・オペロンとの差が見られなかった。つまりポーラリティは見られなかった。DNA複製を行わないファージの変異株を用いても全く同様の結果を得た。これらの結果は転写と蛋白質合成との共転関係はプロモーターによって決定されるということを強く示唆する。しかしファージのN遺伝子産物がこれに関与している可能性は否定できない。これらの結果はオペロンの終りの転写の停止信号は単なるナンセンス変異であるという仮説を否定する。

論文の審査結果の要旨

瀬川隆君の論文はオペロンの転写の終止機構を解明する手段の一つとして、ナンセンス変異の極性効果を検討し、従来より知られたナンセンス変異による転写レベルでの極性効果は絶対的なものではなく、その転写開始部位(プロモーター)の性質に大きく依存する事を明らかにしたものである。

この研究の特徴は、全く同一のオペロンの転写が二つのプロモーターによって制御されるような系を用いたことである。すなわち、大腸菌ファージλの初期遺伝子のオペロン(Nオペロン)の一部と置換したトリプトファン・オペロンでその転写が本来のプロモーター(P_{trp})とファージのNオペロンのプロモーター(P_L)の両方によって制御され、またその一方のみを抑制する条件を設定することができる系である。このトリプトファン・オペロンのE遺伝子内に本来強い極性効果を持つことが知られたナンセンス変異を遺伝的組換えによって導入し、さらにファージのDNA複製による影響を除くため、ファージのP遺伝子に変異を導入して実験を行った。

メッセンジャーRNAのパルスラベル法及びラベルしたRNAとトリプトファン形質導入ファージφ80 p_{trp} のDNAとのDNA-RNAハイブリッド生成法によって、トリプトファン・オペロンに特異的なメッセンジャーRNAを検出定量し、更に、蔗糖密度勾配遠心法によってRNAの大きさを測った。これらにより P_{trp} からの転写ではE遺伝子内のナンセンス変異によって転写レベルでの強い極性効果がみ

られるのに対して、 P_L からの転写では極性効果はみられないことが結論された。この事実は P_L からの転写では翻訳との密接な共軛関係を必要としないことを示し、またオペロンの終りの停止信号が単にナンセンス変異だけによるのではない可能性をも示唆する。

この研究は遺伝子の形質発現の分野において有用な新しい知見を加えたもので、学位論文として十分価値あるものと認められる。