

Title	大腸菌mRNAの合成と崩壊の制御機構
Author(s)	久保, 恵
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/32155
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

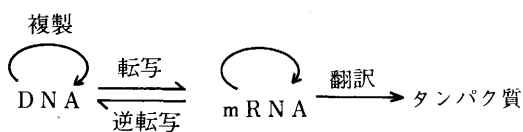
<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	久保 恵
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4559 号
学位授与の日付	昭和 54 年 3 月 24 日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	大腸菌 mRNA の合成と崩壊の制御機構
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 近藤 宗平 教授 松原 謙一

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

遺伝子の情報発現は転写と翻訳の過程(下図)をへて行なわれ、その発現量の調節は(1)mRNAの合成(2)mRNAの崩壊、及び(3)mRNAの翻訳の3段階で行われている。その(1)に関して、DNAの高次構造と転写鋳型活性の関連及び(2)に関しては、mRNAの崩壊率を決定する機構を明らかにすることを目的とした。



〔方法ならびに成績〕

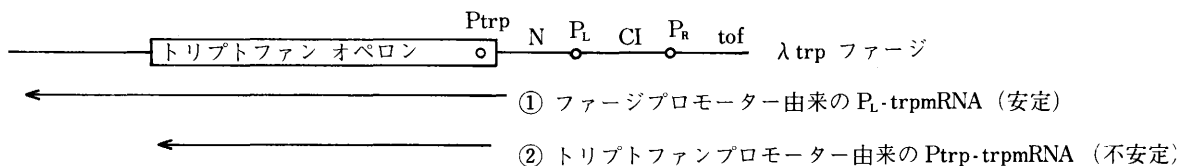
(1) DNAの高次構造と転写鋳型活性との関係

大腸菌やそのファージやプラスミドのDNAは細胞内では負のスーパーコイル(超コイル)構造を形成している。この高次構造の形成はDNA gyraseによって行われる。DNA gyraseの活性はnalidixic acid (nal), oxolinic acid (oxo), coumermycin A (cou)及びnovobiocinなどの抗生物質によって阻害される。そこで大腸菌とかλtrpファージやmini col E1-trpプラスミドをもつ大腸菌にこれらの抗生物質を作用させて、DNAのスーパーコイル構造の形成を阻害した場合のそれらのDNAの転写鋳型活性の変化を調べたところ、活性の大巾な減少が観察された。遺伝的変異によって抗生物質に耐性になったDNA gyraseをもつ大腸菌では、阻害の減少が認められた。

以上のことから、DNAgyrase によって形成される DNA のスーパーコイル構造はその転写鋳型活性に重要な影響を与えていると推察された。

(2) mRNA 崩壊の制御機構

大腸菌の mRNA には不安定な分子種と比較的に安定な分子種とが存在する。大腸菌のトリプトファン trp mRNA は不安定であるが、 λ trp ファージ (大腸菌の trp オペロンを組み込んだファージ) でファージの P_L プロモーターから合成される trp mRNA は安定である (下図)。



P_L -trp mRNA の安定化には、 λ ファージの tof 遺伝子の産物である tof 蛋白が関与していることが最近我々のグループによって明らかにされた。 P_L -trp mRNA が安定化される機構として tof 蛋白が mRNA 分解酵素を修飾してこれが P_L -trp mRNA 分子の 5' 末端部位に作用しえないようにする; 或いは tof 蛋白が P_L -trp mRNA の 5' 末端構造に付着するかこの部分の構造を修飾して mRNA 分解酵素がこの mRNA に作用しえないようにする, などが考えられる。そこで, tof 蛋白がどのような機構で mRNA の安定化に関与しているのかを明らかにするために, λ ファージや λ - ϕ 80 ハイブリッドファージなどの 2 重感染系を用いて tof 蛋白の trans 作用効果を調べた。 λ trptof⁻ ファージ (P_L -trp mRNA は不安定) とともに $i^h h^h$ (λ ファージ) および $i^{80} h^h$ (tof⁸⁰) (λ - ϕ 80 ハイブリッドファージ) を重感染させて tof^h 蛋白・或いは tof⁸⁰ 蛋白を λ trp (tof⁻) ファージに対してトランスに供給すると, tof^h 蛋白では P_L -trp mRNA が安定化するが tof⁸⁰ 蛋白が供給された場合には不安定であった (下表)。この場合には, P_L -trp mRNA の 5' 末端構造は λ ファージの RNA sequence である。

phage	tof	5' end of trp mRNA	trp mRNA
λ trp tof ⁺	λ	λ	安定
λ trp tof ⁺ + λ	λ	λ	安定
λ trp tof ⁻ + $i^{80} h^h$	80	λ	不安定
ϕ 80trp	80	80	安定

ϕ 80trp ($i^{80} h^{80}$) ファージのファージプロモーター由来の trp mRNA は安定であるので, 5' 末端が ϕ 80 RNA sequence である trp mRNA は tof⁸⁰ 蛋白で安定化されると推定される。

以上のことから, tof 蛋白は P_L -trp mRNA の 5' 末端構造に作用することによってこの mRNA を安定化している可能性が支持される。

[総括]

DNA の転写開始部位 (プロモーター) の一次構造は近年多くの例について解明されているが, その部分で形成されうると予想される DNA 高次構造 (palindrome structure) が実際に細胞内で転写開始に際して重要な機能を演じているのかどうかは明らかではない。本実験で観察された事実は, このような可能性を実験的に解明することができることを示唆していると思われる。

λ trp フェージのP_L プロモーターから合成されるtrpmRNAは、その5'末端構造がtof 蛋白によって何らかの修飾をうけて安定になっていると考えられる。このことは、有核細胞系の多くのmRNAが5'末端部位に7mGのCap構造をもつことによって安定化されている可能性が報告されていることと比較して興味もたれる。また本実験の結果はP_L-trpmRNAの安定化にはこの分子の5'末端構造が最も重要な役割を演じていることを示しているが、このことは、mRNA分解が分子の5'末端→3'末端にかけて進行するという従来のいくつかの知見と矛盾しない。

論文の審査結果の要旨

DNA gyrase がDNAの複製や組換えの場合に重要な役割を果たしているということは既に報告されている。

本研究においてはDNA gyrase が大腸菌、phage 及びplasmid の転写にも重要な役割を演じていることを明らかにした点で大きな意義がある。またDNA gyrase には負の超コイル構造を形成する活性が存在することから、DNAの高次構造（超コイル構造）とDNAの転写鑄型活性の関係を実験的に解明することが可能である。

また有核細胞系で発生初期の不安定なmRNA分子種の一部が分化が進行するにつれて安定化することが報告されている。大腸菌- λ フェージ系における不安定なtrp-mRNAを安定なtrpmRNAに変換させるtof タンパクの寄与がそれと類似しているかどうかということに意味がある。

以上のように本研究は大腸菌におけるmRNAの合成とその安定性について重要な貢献をなしたものであり、医学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。