



Title	大腸菌mRNAの合成と崩壊の制御機構
Author(s)	久保, 恵
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32155">https://hdl.handle.net/11094/32155</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

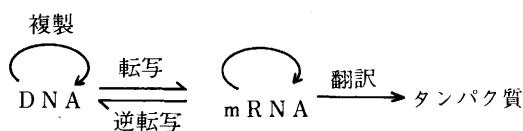
氏名・(本籍) 久保 恵  
 学位の種類 医学博士  
 学位記番号 第 4559 号  
 学位授与の日付 昭和 54 年 3 月 24 日  
 学位授与の要件 医学研究科 生理系専攻  
 学位規則第 5 条第 1 項該当  
 学位論文題目 大腸菌 mRNA の合成と崩壊の制御機構

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 の高次構造と転写活性との関連及び(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〕

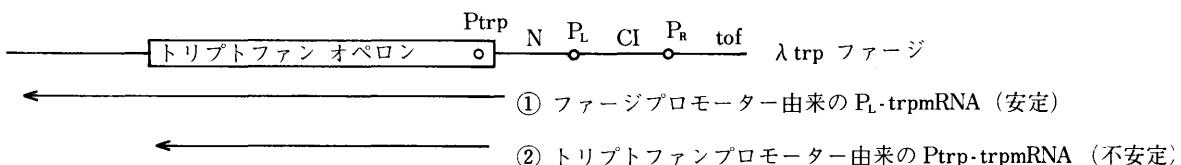
##### (1)DNA の高次構造と転写活性との関係

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錆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trpmRNAは不安定であるが、 $\lambda$ 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<sub>L</sub>プロモーターから合成されるtrpmRNAは安定である（下図）。



P<sub>L</sub>-trpmRNAの安定化には、 $\lambda$ 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<sub>L</sub>-trpmRNA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<sub>L</sub>-trpmRNA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<sub>L</sub>-trpmRNA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、 $\lambda$ ファージや $\lambda-\phi 80$ 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。 $\lambda$ trptof<sup>-</sup>ファージ（P<sub>L</sub>-trpmRNAは不安定）とともに $i^{\lambda}h^{\lambda}$ （ $\lambda$ ファージ）および $i^{80}h^{\lambda}$ （tof<sup>80</sup>）（ $\lambda-\phi 80$ ハイブリッドファージ）を重感染させてtof <sup>$\lambda$</sup> 蛋白・或いはtof<sup>80</sup>蛋白を $\lambda$ trp（tof<sup>-</sup>）ファージに対してトランスに供給すると、tof <sup>$\lambda$</sup> 蛋白ではP<sub>L</sub>-trpmRNAが安定化するがtof<sup>80</sup>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<sub>L</sub>-trpmRNAの5'末端構造は $\lambda$ ファージのRNA sequenceである。

phage	tof	5' end of trpmRNA	trpmRNA
$\lambda$ trp tof <sup>+</sup>	$\lambda$	$\lambda$	安定
$\lambda$ trp tof <sup>+</sup> + $\lambda$	$\lambda$	$\lambda$	安定
$\lambda$ trp tof <sup>-</sup> + $i^{80}h^{\lambda}$	80	$\lambda$	不安定
$\phi 80$ trp	80	80	安定

$\phi 80$ trp ( $i^{80}h^{80}$ ) ファージのファージプロモーター由来のtrpmRNAは安定であるので、5'末端が $\phi 80$ RNA sequenceであるtrpmRNAはtof<sup>80</sup>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<sub>L</sub>-trpmRNA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。

$\lambda$  trp ファージの  $P_L$  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 'mG 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がもたれる。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 の転写錆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- $\lambda$  ファ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。