



Title	大腸菌トリプトファン遺伝子をもつ組み換えプラスミドDNAの構造と機能
Author(s)	中村, 春次
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32621
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)	中 ^{なか} 村 ^{むら} 春 ^{はる} 次 ^じ
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 8 6 8 号
学位授与の日付	昭和 55 年 3 年 25 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	大腸菌トリプトファン遺伝子をもつ組み換えプラスミド DNAの構造と機能
論文審査委員	(主査) 教 授 松代 愛三 (副査) 教 授 松原 謙一 教 授 倉橋 潔 助教授 今本文男

論 文 内 容 の 要 旨

大腸菌のDNAは細胞内において超コイル構造をもち、いわゆる核様体(ヌクレオイド; DNA—タンパク質複合体)を形成している。核様体の構造についてはPettijohnらによってモデルが提出されている。最近、バクテリア、ファージやプラスミドなどの閉環二重鎖DNAの超コイル構造形成を行うDNAジャイレースの発見やその酵素活性の阻害によりDNA合成や組み換えが阻害され、DNAの転写鋳型活性も低下するという報告、あるいは、大腸菌の核様体にはヒストンタンパク質と似た塩基性タンパク質(HUやBH1, BH2)が会合しており、HUタンパク質はSV40DNAと結合してヌクレオソーム様構造を形成するという報告がなされた。これらの知見は大腸菌においても細胞の約200倍のDNAが超ラセン構造を形成したり、ある種のタンパク質と結合して折りたたまれていることを示唆しており、その折りたたみ構造は遺伝子の複製や発現などの生化学反応を可能にする機動性と規則性をそなえている可能性を示している。

このような染色体DNAの高次構造と機能を研究するためには、大腸菌のような大きな分子でなく、もっと小さな染色体DNAでしかも特異的な遺伝子発現活性の分析が可能な実験系を用いると有利であろう。本研究では大腸菌DNAの約250分の1程度の大きさをもつ閉環二重鎖DNA組み換えプラスミドを用いて上の問題へのアプローチを試みた。大腸菌のトリプトファン遺伝子を含む組み換えプラスミドを作成し、これをミニセル産生菌に移し、ミニセル内においてプラスミドDNAが形成するプラスミドDNA—タンパク質複合体(ミニ核様体)を調製し、その構造と機能の解析を試みた。結果は次の通りである。(1)ミニセル内および正常大腸菌内でのプラスミドの遺伝子発現の様式は転写の開始と終結あるいはmRNAの崩壊に関して本質的な差はなかった。(2)プラスミドを保持したミニセルよ

り膜成分の結合したミニ核様体と膜成分のないミニ核様体が調製でき、膜成分の結合したミニ核様体には超コイル構造をもったプラスミドDNA、合成途上のRNA、リボゾーム及び細胞の構成タンパク質が付着している。(3)非塩基性の細胞構成タンパク質として約40種のを二次元電気泳動法により確認した。(4)DNAジャイレース阻害剤の添加により、ミニセル内でのプラスミドDNAの転写阻害が起ると同時に、その超コイル構造の減少が観察された。このことは、DNAジャイレースがミニ核様体に会合しており、プラスミドDNAの超コイル構造が転写に必須であることを示している。

論文の審査結果の要旨

近年大腸菌においてもDNAの超ラセン構造が認められ、その形成にDNAジャイレースが関与しており、またヒストンタンパク質に似た塩基性タンパク質の存在が示されるなど、細胞内におけるDNA分子の存在様式と遺伝子発現の関連性がクローズアップされつつある。

中村君は大腸菌のトリプトファン遺伝子をもつ組換えプラスミドを作成し、このプラスミドをミニセル中に入れて、そこからプラスミドDNAが形成するDNA-タンパク質複合体-ミニヌクレオイドを調製してDNAの高次構造と機能の研究を進めた。その結果プラスミド上に担われた大腸菌の遺伝子発現の様式が大腸菌あるいはファージの系におけるそれと同質であることを示すと共に、ミニヌクレオイドは大腸菌ヌクレオイドと同質であるが結合タンパク質の種類が少ないなど単純化されており、今後DNAの高次構造と機能の研究に有効であることを明らかにした。またこの系でDNAジャイレースの阻害剤を用いてDNAの転写鋳型活性が止ることを明らかにし、ここでもDNAの転写鋳型活性にDNAの超ラセン構造が必要であることを示した。

以上中村君の論文はDNAの高次構造の研究に有効な実験系を開発すると共に、遺伝子発現におけるDNAの高次構造の意義に新知見を加えるものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。