

Title	原核細胞における核様体の構成蛋白質
Author(s)	永田, 昭久
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33318
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【2】

氏名・(本籍)	なが 永 田 昭 久
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5917 号
学位授与の日付	昭和 58 年 3 月 3 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	原核細胞における核様体の構成蛋白質
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 松原 謙一 教授 山之内孝尚

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

真核細胞のゲノム DNA は、ヒストンやノンヒストン蛋白質と複合体を形成することによって細胞内に折りたたまれており、その高次構造と機能発現との関連性が問題となっている。最近、大腸菌のような原核細胞でも DNA はある機構によって細胞内に折りたたまれておりそれによって遺伝子発現能力が維持されていることが明らかになっている。そこで、私達は、大腸菌細胞内における DNA の高次構造形成と機能発現にどのような核蛋白質が関与しているかを調べた。

〔方法ならびに結果〕

大腸菌 S100 粗抽出液中の蛋白質、大腸菌 DNA-蛋白質複合体 (核様体) の DNA 結合性蛋白質、およびプラスミド DNA (トリプトファン遺伝子をもつ組換えプラスミド DNA) が細胞内で形成するプラスミド DNA-蛋白質複合体 (ミニ核様体) の DNA 結合性蛋白質の性質を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で比較解析した。その結果、核様体に結合している蛋白分子種は約 50 種類で、その大部分は、分子量が約 1 万~3 万ダルトンの大きさであることが判明した。一方、細胞質に存在する核様体非結合性蛋白質の大部分は、分子量が約 3 万ダルトン以上であった。大腸菌細胞内においては、核様体に結合している蛋白質の大部分は細胞質に存在する蛋白質とは異なった特別な分子種であることが判明した。プラスミド DNA が細胞内で形成するミニ核様体に関しても同様の結果が得られた。特に、分子量 2.8 万、1.7 万、1.4 万及び 0.9 万ダルトン蛋白質が、核様体及びミニ核様体に共通な主な結合蛋白質であることが判明した。

これらの核蛋白質のうち、核様体の構成に重要な役割をもつ蛋白分子種を検出する目的で、核様体

蛋白質を調整して、*in vitro*実験系で、プラスミドDNAと結合させてミニ核様体を再構成させる実験を行なった。その結果、まずプラスミドDNAがこの条件下で核蛋白複合体を形成してDNA構造のコンパクト化がおこり沈降定数が増大することが明らかとなった。そして、プラスミドDNAに再結合した蛋白質は主として2.8万、1.7万、1.4万及び0.9万ダルトンの4分子種から成る蛋白質であることが判明した。この0.9万ダルトンの蛋白質は、大腸菌のヒストン様蛋白質としてすでにJ. R. Yaniv等 (Proc. N. A. S, 72p3428—32, 1975)によって報告されているHu蛋白質と一致することがアミノ酸分析の結果から証明された。さらに、真核細胞においてDNA—ヒストン蛋白質複合体の*in vitro*再構成の際に使用されるnicking-closing enzymeを用いてDNAの超コイル構造を弛緩させた場合、これら4種類の蛋白質はより強固にDNAに結合することが判明した。

さらに子牛胸腺DNAカラムを作製し、核様体のDNA結合性蛋白質とのアフィニティークロマトグラフィーを行なった。その結果、これら4種類の蛋白質は、異種DNAである子牛胸腺DNAにも強い結合性をもつことが判明した。

〔総括〕

大腸菌細胞内におけるDNAの高次構造形成と機能発現にどのような核蛋白質が関与しているかを調べた。

- ① 大腸菌細胞内においては、DNAと結合する蛋白質と結合しない蛋白質があることが判明した。DNAと結合する蛋白質は、約50分子種で分子量約1万～3万ダルトンの大きさであることが判明した。一方、DNAと結合しない蛋白質の分子量は約3万ダルトン以上のものが多かった。
- ② DNAと結合する蛋白質の中で特に、分子量2.8万、1.7万、1.4万、及び0.9万 (Hu) ダルトンの蛋白質が、核様体及びミニ核様体に共通な主な結合性蛋白質であることが判明した。
- ③ *in vitro*でのDNA—蛋白質再構成実験からも、核様体の構成に重要な役割をもつ蛋白分子種は、2.8万、1.7万、1.4万及び0.9万 (Hu) ダルトンの4分子種からなる蛋白質であることが判明した。
- ④ これら4種類の蛋白質は異種DNAである子牛胸腺DNAにも強い結合性をもつことが判明した。以上の結果より、これら4種類の蛋白質は、DNAの高次構造形成と維持及びそれによる遺伝子発現機能に重要な役割を演じているものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

本論文は、原核細胞である大腸菌細胞内におけるDNAの高次構造形成と機能発現にどのような核蛋白質が関与しているかを調べた。その結果、0.9万 (Hu)、1.4万、1.7万及び2.8万ダルトンの4種の蛋白質の関与の可能性を明らかにした。これは、真核細胞のヒストンにおけるクロマチンの転写鋳型機能と考え合わせて興味ある問題である。従って、本論文は、DNAの高次構造形成と機能発現に関する基礎的な知見を提供したもので、学位論文として価値あるものと認める。