Osaka University Knowledge Archive

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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【2】

氏名・(本籍)	永田昭久（ながた あきひさ）
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，先ずプラスミド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の高決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。