

Title	大腸菌の核様体蛋白質の精製及び機能解析
Author(s)	山崎, 健一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/34642">http://hdl.handle.net/11094/34642</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

【35】

氏名・（本籍）	やま 山	ざき 崎	けん 健	いち 一
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6829	号	
学位授与の日付	昭和60年3月25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	大腸菌の核様体蛋白質の精製及び機能解析			
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 松原 謙一 教授 近藤 宗平			

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

大腸菌のDNAが、負の超ラセン構造を形成して立体構造的にコンパクトな形で菌内に収納されていることは、よく知られている。また大腸菌の場合、DNAは何種類かの蛋白質と結合して核蛋白質複合体となり核様体(ヌクレオイド)を形成している。現在までに核様体蛋白質のいくつかは精製され、個々について、その特徴付けが行なわれてきてはいるが、核様体の全体像について見てみると、真核生物細胞におけるヌクレオソーム構造のようなモデルは提唱されていない。本研究ではDNAをリガンドとしたアフィニティーカラム等を用い、DNA結合性蛋白質をすべて含む分画から、それぞれを精製し、できるだけ多くの核様体蛋白質の機能解析をすることにより、核様体の全体像とその転写鋳型活性との関係を調べようとした。

#### (方法ならびに成績)

核様体蛋白質は二種の方法で分離した。第一の方法は、まず大腸菌をリゾチームで処理し、遠心分離により核様体を精製した後、そこから蛋白質を抽出して核様体蛋白質とした。第二の方法は、まず大腸菌のS100抽出液を用意し、その中で牛胸腺DNAをリガンドとしたアフィニティーカラムに結合する全蛋白質を集め、DNA結合性蛋白質とした。蛋白質の組成において、二種の分離法による本質的な差異は認められなかったので、後者の方法で分離したDNA結合性蛋白質を出発材料として、それぞれの蛋白質の精製を行なった。精製標品を用いて二次元電気泳動法により等電点をもとめた。またDNAとの親和性については、各蛋白質のDNAアフィニティーカラムからの溶出塩濃度を、その蛋白質のDNAからの解離塩濃度として測定することにより決定した。

大腸菌核様体に結合する蛋白分子種のうち DNA に比較的強く結合する七種類の蛋白質 (分子量 9000, 17000 <二分子種>, 22000, 24000, 27000, 28000) を精製 (精製度 90% 以上) ないしは部分精製を行なった。これらのうち 9K 蛋白質は, そのアミノ酸組成ならびに生化学的性質から HLP II (=HU 蛋白=BH 2) として同定できた。また 17K 蛋白質は二分子種よりなり, そのうち 17K(a) 蛋白質は HLP I (=プロテイン 1=BH 1) として同定できた。さらに 26K 蛋白質は, 岸らの報告における 22K 蛋白質と同定でき, 27K 蛋白質は, これがヒストン H2A 抗体と交叉反応をすることより H 蛋白質であることも同定できた。上記四種以外の 17K(b), 24K, 28K 蛋白質は未知の分子であった。

これら七種の蛋白質のうち, 二種の塩基性蛋白質である HLP I と HLP II は DNA への強い結合性を示し, また 28K 蛋白質も HLP ほどではないが比較的強く DNA に結合した。

#### (総括)

大腸菌核様体蛋白質の DNA に対する結合力をヒストンと比較するとやや弱い。例えばヒストン H3, H4 及び H2A, H2B の DNA からの解離塩濃度が, それぞれ 1.0 M 及び 0.8 M NaCl であるのに対し HLP I や HLP II のそれは 0.25 M NaCl であった。このことから核様体蛋白質中には DNA と比較的強く結合する蛋白質が二種存在しており, それらはヒストンに類似してはいるが, 大腸菌内で DNA とヌクレオソームのような頑丈な複合体を形成しているのではなく, むしろ他の蛋白質 (例えばトポイソメラーゼ) と作用しあって, DNA を立体的にコンパクトに "ゆるく" 収納していると考えられる。このことはヌクレオソーム構造をもつ真核生物の DNA のほとんどの領域の転写鑄型活性が不活化しているのに対し, 大腸菌の DNA のほとんどの領域が常に複製, 組換, 転写において高い活性を示すことと深いかかわりがあると考えられる。ここ数年, 真核生物のノンヒストンが転写活性を増大させることで注目されているが, HLP や 28K 蛋白質はヒストンよりむしろノンヒストンの機能に似ていると考えられる。また二種の HLP と 28K 蛋白質は, 大腸菌の RNA ポリメラーゼと比べても, その DNA に対する親和性は弱い。このことは転写が行なわれている時 HLP や 28K 蛋白質が DNA と作用しにくい環境におかれていることを示しているので, ヒストンとの違いを説明する上で重要である。現在までに HLP II が転写活性を増大させること, HLP I が RNA ポリメラーゼと作用して転写に影響を与えることなどがすでに知られている。これらのことから, HLP I・HLP II の二種の HLP が DNA 二本鎖の一部を開放して一本鎖にして転写活性を増大させたり, RNA ポリメラーゼと作用して, 転写の開始や延長の効率を高めている可能性も考えられる。

### 論文の審査結果の要旨

本研究は, (1)大腸菌 DNA が菌内で HLP I, HLP II という 2 種の蛋白質と強く結合し, それ以外の数種の弱く結合する蛋白質とともに核様体を形成しているという, 核様体の全体像を解明し, (2)また, このような核蛋白質複合体の状態においても RNA ポリメラーゼが充分作用しうることを明らかにした。

以上の成績は, 大腸菌内での遺伝子発現の調節機構を究明する上で重要であり, 学位論文として価値あるものと認める。