

Title	ISOLATION AND CHARACTERIZATION of "NUCLEOPROTEIN" FROM BACILLUS SUBTILIS
Author(s)	Takeuchi, Masao
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/495
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	竹 内 昌 男 ただけ うち まさ お
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 1 1 2 5 号
学位授与の日付	昭 和 4 2 年 3 月 2 8 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	枯草菌の核タンパク質の単離とその性質について
論文審査委員	(主査) 教 授 次 田 皓 (副査) 教 授 佐 藤 了 教 授 倉 橋 潔

論 文 内 容 の 要 旨

最近、高等生物の細胞と同様に細菌細胞にも細胞核が存在していることを電子顕微鏡観察からわかってきた。又、核の単離も試みられたところ、それは核タンパク質(nucleoprotein)であり、核様分画(nuclear fraction)と名づけられた。しかし、詳しい成分組成や、性質、役割などについて、まだほとんど判明していない。そこで、従来、*Bacillus megaterium* で行なわれている核様分画の単離法を改良し、単離した枯草菌の細胞核様分画の化学的性質について研究した。

枯草菌マーマーグ株(JB 15)をリゾチーム処理してプロトプラストにした。それを Lubrol-W で溶菌したのち、蔗糖密度重層遠心法を行なった。顕微鏡的に細胞膜は密度1.30と1.20の固着に極在し、この分画には細胞の DNA の80—90%、RNA の4%、タンパク質の20%を含んでいた。又、RNA ポリメラーゼも含まれていた。細胞質成分の混在は無視できた。

この分画をポッター型ホモゲナイザーで軽くけんたくして、超遠心すると細胞膜と DNA を主体にした核様分画を含む上清分画に分別できた。この際、 Mg^{++} 濃度に依存し、細胞膜から遊離させる為には1 mM 以下にする必要があった。さらに、蔗糖密度勾配遠心法、differential centrifugation などで精製したところ核様分画はどの標品でも DNA : RNA : タンパク質 = 1 : 0.2~0.3 : 0.8~0.9 の組成比から構成されていた。核様分画は蔗糖密度勾配遠心法、セファデックス6.75カラムクロマトグラフィ、などで単一ピークであったこと等から、DNA-タンパク質の複合体であることが判った。

核様分画の成分の性質を調べる目的で、核様分画は密度1.70の CsCl 溶液で遠心した。主成分である RNA, DNA, タンパク質は各々分離することが出来た。DNAは CsCl 溶液中での密度、蔗糖密度勾配遠心法によるパターンなどから、細胞から直接抽出した DNA と同一性質を示した。RNA は三種類あり、この CsCl 遠心法により、i) 遊離する RNA と ii) DNA に結合している RNA と iii) タンパク質に結合しているものとあった。大きさは三種類の RNA とも違ったものであった。

核様分画に含まれていたタンパク質をアミノ酸分析したら、動物細胞核で DNA に結合しているヒストン様のタンパク質でないことがわかった、CsCl 遠心法で単離した DNA とタンパク質は透析して CsCl を除去することによって再結することが、セファデックス G75 カラムクロマトグラフィーと T_m の測定によって証明できた。

論文の審査結果の要旨

竹内君は枯草菌マーバーグ株よりデオキシリボ核酸と共に存在する蛋白成分をデオキシリボ核酸—蛋白質複合体として分離し、その性質を研究した。この研究の目的とする所は、遺伝子核酸に近く存在する蛋白質は遺伝子の機能である遺伝形質発現の機構に必ず重要な役割を持つものに違いないという仮説にたつて、先ずその生化学的な基礎づけをすることにある。

この目的のため形質転換機能をもつ枯草菌マーバーグ株を用い、菌体を出来るだけ緩和な条件で処理して菌体デオキシリボ核酸の大部分を含む、ヌクレア分画と呼ばれるものを再現性よく分離することに成功し、そのものがデオキシリボ核酸46%蛋白質40%リボ核酸14%とからなることを見出した。次にその各々の組成成分の性質を検討し、デオキシリボ核酸は、細胞そのものから直接取り出したものと比重、大きさの点で一致すること、リボ核酸が3成分からなり、一つは遊離の状態、第二の成分は蛋白質と強く結合した状態で、第三の成分はデオキシリボ核酸と Hybrid を形成しているような、しかも短時間で合成される伝令 RNA の如き状態で存在すること等の性格づけをした。更にその蛋白質はそのアミノ酸組成の上からはヒストン等の従来核酸と結合した存在様式をとることで知られている蛋白質と異なり中性又は酸性の性質を示し、非常に水溶液中で沈澱しやすい事を見出した。この蛋白質をそのデオキシリボ核酸とまぜ合わせるとその蛋白質の不溶性な性質を失い、ほぼ元の出発物質であるヌクレア分画とほぼ同様な性質をもつ、いわゆる再合成の実験に成功した。ヌクレア分画の分離は現在迄二三の細菌によってなされているが、同君の行なったその分画の各成分の性質を細かく性格づけしたが如き実験は全く新しい研究である。特にその蛋白成分—核蛋白質—の分離と、この蛋白質とデオキシリボ核酸の再合成の実験は全く新しい研究であり、この蛋白分画の生理的な役割りについて今後期待される所が大きい。

以上に示されるように竹内君の研究論文は、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。