

氏名	尾崎 美和子
学位（専攻分野）	博士（理学）
学位記番号	総研大甲第18号
学位授与の日付	平成4年 3月16日
学位授与の要件	生命科学研究科 遺伝学専攻 学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Structural and Functional Modulations of RNA polymerase During Growth Phase Transition of <u>Escherichia coli</u>
論文審査委員	主査 教授 瀬野 悍 二 教授 堀内 嵩 教授 堀内 賢 介 教授 桂 勲（国立遺伝学研究所） 助教授 藤山 秋佐夫 助教授 山尾 文明

論文内容の要旨

During the growth phase transition of Escherichia coli from exponential growth to stationary phase, the pre-existing RNA polymerase was found to be converted into at least three different holoenzyme forms, which could be isolated by phosphocellulose column chromatography (Ozaki, M., et al. (1991) Mol. Gen. Genet. 230, 17-24). The relative levels of these three holoenzyme forms changed depending on the phase of cell growth. In the in vitro mixed transcription assay using 33 different E. coli promoters, one of the stationary-phase RNA polymerase, S1, showed promoter recognition properties which are significantly different from that of holoenzyme from exponentially growing cells.

Enzyme reconstitution experiments showed that the altered promoter selectivity is due to alteration in core enzyme. After a variety of attempts to achieve in vitro interconversion between the exponential and the stationary phase RNA polymerases, S1-form enzyme was found to be converted in vitro into such an enzyme as the log-phase form, following incubation with nucleotides or pyrophosphate (Ozaki, M. et al., (1991) Nucleic Acids Res. in press). The conversion was indicated by not only the shift of elution position from a phosphocellulose column but also the change in the promoter selectivity. Using polyphosphate kinase (PPK) which polymerizes the terminal phosphate of ATP to a long chain polyphosphate in a freely reversible reaction, polyphosphate was detected in the stationary-phase RNA polymerase (Ozaki, M. et al., in preparation). These results altogether lead to the possibility that RNA polymerase is converted into the stationary-phase form by binding polyphosphate. I propose that the modulation of RNA polymerase by polyphosphate plays a role in the global switch of gene transcription during the growth transition of E. coli to stationary phase.

論文の審査結果の要旨

自然環境での大腸菌において、増殖休止相は増殖相と同様に重要な位置を占める。培養系において対数増殖期から定常期に入った細胞は発現遺伝子の変化やリボゾームの変換など生理的变化を伴うことが知られている。尾崎美和子氏は、上記の発現遺伝子の変化に RNAポリメラーゼの質的な変換を予測した。指導教官石浜明教授の研究室が築いてきた RNAポリメラーゼの豊富な生化学的知識体系と *in vitro* 解析技術、特に、転写プロモーターの選別活性測定技術を駆使することによって、定常期 RNAポリメラーゼの動態を、精製酵素を用いて解析した。その結果、定常期ポリメラーゼは対数期のものにくらべてホスホセルロースカラムからの溶出が著しく早く、負の荷電量の変化が示唆された。さらに定常期型酵素に *in vitro* でヌクレオチドやピロリン酸を加えることによって対数期酵素に変換させることに成功した。その他の検討も加えて、その変化が ATPの貯蔵型と考えられるポリリン酸のコア酵素への結合によることを強く示唆し、蛋白質のリン酸化や酸性蛋白質の結合では説明しにくい結果を得た。また、転写プロモーターの選別活性は *in vivo* での定常期遺伝子発現パターンとおおむね一致したが、案に相違して、プロモーターの選別認識はシグマ因子ではなく、コア酵素であることを発見した。しかし、その変化がポリリン酸結合に起因することの直接の証明は残されている。尾崎氏の論文は目的、成果およびそこから引き出される結論の正当性に問題はなく、また、関連研究分野に大変興味深くかつ新しい知見をもたらすものである。したがって、審査委員全員一致で本論文は博士号取得に値すると判定した。