大腸菌ファージ fd のプロモーター領域の構造

京 都 大 学 杉 本 和 則
化学研究所

1. ファージ fd と RNA ポリメラーゼ

大腸菌を宿主とする繊維状ファージ fd¹⁾ は M13, f1, ZJ/2 などとは極めて近縁で、環状 1 本鎖 DNA と 2 種のコート蛋白質から成っている。ファージ DNA は宿主に感染後、環状 1 本鎖 DNA から環状 2 本鎖 DNA (Replicative Form DNA: RF-DNA) への変換、RF-DNA の増殖、1 本鎖 DNA の生成の 3 段階を経て増殖する。ファージ遺伝子の mRNA は RF-DNA を鋳型とし宿主大腸菌の RNA ポリメラーゼに依って合成される。ファージ fd は最も小型のファージの 1 つであり、変異株の解析から 8 個の遺伝子 (シストロン) が知られている。RF-DNA の分子量は 4.4×10^6 ドルトンであり感染菌から均一な RF-DNA 特に切れ目がない RF-I 型の DNA を調製することができる。その他繊維状ファージの諸性質については総説²⁾がある。

一方 RNA ポリメラーゼは $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ のサブユニット構造から成り、 σ サブユニットが RNA 合成の開始に重要な役割を果たしていることが知られている。³⁾

RNA ポリメラーゼが DNA と相互作用し転写を開始

する DNA の特異的な部位は“プロモーター”，また転写を終止する部位は“ターミネーター”と呼ばれている。

筆者らはファージ fd の RF-DNA と大腸菌の RNA ポリメラーゼを用いて DNA の持つ遺伝情報を解読する最初の過程である mRNA 合成開始の詳細な機構を解明しようとしてきた。今までに得られた知見をまとめてみた。

2. 制限エンドヌクレアーゼによる切断点地図

DNA 上のプロモーターやターミネーターの正確な位置の決定、さらにそのヌクレオチド配列の決定に必須であったのが制限エンドヌクレアーゼの発見である。制限エンドヌクレアーゼには I 型と II 型があり構造研究には酵素活性に S-アデノシルメチオニンを必要とせず切断点も一定している II 型が有効である。Smith ら^{4,5)} が 1970 年に *Haemophilus influenzae* d 株から制限エンドヌクレアーゼ Hind II を精製しその特異性を決定した。その後種々の菌株から特異性の異なる酵素が数多く発見された。表 1 に fd RF-DNA の切断に使用

表 1 制限エンドヌクレアーゼの特異性

酵 素	配 列 (5' → 3')	fd RF DNA の切断点数	文 献
Alu I	A-G $\downarrow$ C-T	15	11
Dpn I, II	G-A $\downarrow$ T-C		
Hae III	G-G $\downarrow$ C-C	10	11, 42
Hap II, Hpa II	C-C-G $\downarrow$ G	13	6, 8, 42
Hha I	G-C-G $\downarrow$ C	17	11
Hinf	G $\downarrow$ A-N-T-C	> 20	11
EcoR II	C-C-A $\downarrow$ G-G	2	40, 41
Hph I	(N) $\downarrow$ T-C-A-C-C		
Hind III	G-T-Y $\downarrow$ R-A-C	1	11, 6, 8, 42
Hae III, HinfH-I	R-G-C-G-C $\downarrow$ Y	3	11, 6, 42
Hga	未 知	6	6, 42

fd RF DNA には Hind III (A $\downarrow$ A-G-C-T-T), EcoR I (G $\downarrow$ A-A-T-T-C), Sma (C-C-C $\downarrow$ G-G-G) による切断部位はない。¹¹⁾

された酵素の特異性と fd RF-DNA 上の切断数を示した。特異性は 4~6 スクレオチド対によって決められている。多くは 2 回回転対称のスクレオチド配列であるが R・Hph I の切断の特異性には対称性がない。

図1 fd RF-DNAの切断点地図、転写地図、遺伝子地図 R・Hind I, R・Hin H I, R・Hga I, R・Hap I による切断点を示した。DNA断片の大きさに従って A, B, C……の順番がつけてある。②: プロモーター, ①: ターミネーター, 図示した以外にいくつかの弱いプロモーターがある。転写はすべて逆時計方向に進む。I~Ⅷは遺伝子を示す。I・R・内に DNA 合成の起点がある。

図1に fd DNA の切断点地図、遺伝子地図、プロモーター、ターミネーターの位置を示した。⁶⁾ 切断点地図は以下のいくつかの方法を組み合わせで作製した。電子顕微鏡、ゲル電気泳動法による DNA 断片の数及び分子量の測定、第1の酵素でできた DNA 断片を特異性の異なる第2の酵素で切断してできる DNA 断片の数及び分子量の測定、第1の酵素でできた DNA 断片の末端をポリヌクレオチドキナーゼを用いて 32p で標識することにより特異性の異なる第2の酵素で切断してできた DNA 断片中末端由来の断片の決定、複数の完全分解断片の結合した断片を得る部分分解法、DNA 断片を DNA ポリメラーゼのプライマーとして用い隣接する断片の決定など種々の方法がある。

切断点地図と遺伝子地図の関係は野生株の RF-DNA からの DNA 断片を ts または amber 変異の 1 本鎖 DNA とアニールさせ 1 部分を 2 本鎖とし Ca^{2+} 処理した大腸菌に感染させる "marker rescue 法"⁷⁾ によって明らかにされた。⁸⁻¹⁰⁾

fd, f1, M13 などとは遺伝的には全く区別することができずどの遺伝子間でも相補性が成り立つ。しかし

切断点地図では数か所に差があることがわかっている。^{8,11)}

3. プロモーター、ターミネーターの配置

fd のプロモーターとターミネーターに関して制限エンドヌクレアーゼによる切断点地図製作以前に *in vitro* の RNA 合成の研究から 1) 合成された RNA はすべて (+) 鎖 (1 本鎖の fd ファージ DNA と同じ鎖) から成っている。2) 数種類の特定な長さの RNA が合成され最長のものは DNA のほぼ 1 まわりの長さである。3) それぞれが一定の 5' 末端構造をもつことなどがわかっていた。このことから RNA 合成は数か所のプロモーターから同一方向に進行し、ひとつの共通のターミネーターですべての RNA 合成が終止するというモデルが考えられていた。^{12,13)}

切断点地図上のプロモーターとターミネーターの位置は種々の制限エンドヌクレアーゼでつくった DNA 断片を鋳型としてプロモーターから RNA を合成し、その長さから求められた。¹⁴⁾

プロモーターを含む RNA 断片は 1~3 種のスクレオシド三リン酸 (XTP) の共存下で RNA ポリメラーゼと安定な複合体を形成する。複合体形成に必要な XTP の種類はそれぞれのプロモーターに特異的であり RNA 合成開始前後のスクレオチド配列に関係していると考えられるが、まだ明確にはなっていない。しかし G2 及び G3 プロモーターは GTP のみの共存下で安定な複合体を形成するという特徴をもっている。DNA 断片と RNA ポリメラーゼとの複合体はニトロセルロース膜に吸着し他の DNA 断片と容易に分けることができる。この性質を利用してプロモーターを含む DNA 断片の分離や DNA 断片上にプロモーターが存在するのを確認することができる。

4. プロモーター領域を含む DNA 断片のスクレオチド配列の決定¹⁵⁻¹⁷⁾

制限エンドヌクレアーゼで切断した fd RF-DNA からポリアクリルアミドゲル電気泳動法によって特定の断片を分離する。分離した断片を異なる酵素で切断しさらに短い DNA 断片を得ることができる。DNA 断片を鋳型とし α 位を ^{32}P で標識したスクレオシド三リン酸を基質とし大腸菌 RNA ポリメラーゼによって (^{32}P) RNA を合成する。断片上でもプロモーターの RNA 合成開始点から正確に能率よく合成が開始され、ターミネーターまたは断片の末端まで進行する。反応液の塩濃度を下げ RNA ポリメラーゼを過剰に加えると、プロ

モーター以外に DNA 断片の末端近傍や DNA 断片内部の特定な点から少量ではあるが RNA 合成が開始される。RNA と短い DNA 断片とでハイブリッドを形成させハイブリッドを形成しなかった部分の RNA を RNase で分解し、DNA 断片に相補的な短い RNA を得ることができる。 ^{32}P 標識の ATP, CTP, GTP, UTP をそれぞれ基質として RNA を合成し、種々の RNA を得てそのヌクレオチド配列を決定し目的とする DNA 断片のヌクレオチド配列を決めた。 (^{32}P) RNA のヌクレオチド配列決定には塩基特異性のある RNase T_1 または強い RNase A で加水分解し生成するオリゴヌクレオチドを 2 次元のポリエチレンイミン (PEI) セルローズ薄層クロマトグラフィーで分離し、他に RNase U_2 , RNase T_2 , ひ臓エキソヌクレアーゼを用いて、オリゴヌクレオチドの配列を決定する。もとの RNA を RNase T_1 で部分分解し得られた RNA 断片の分析から全体の配列を行なう。

G3 プロモーターを含む約 300 ヌクレオチド対の DNA 断片を鋳型としたときプロモーターから開始した約 210 ヌクレオチド鎖の RNA が生成する。図 2 に (^{32}P) GTP を基質としてつくった RNA を RNase T_1 で分解し、2 次元の PEI-セルローズ薄層クロマトグラフィーで展開し、オートラジオグラムにとったものを 1 例として掲げた。配列決定の詳細は文献^{15-17, 32)} 参照。

配列の決定されたファージ fd のプロモーター (G2, G3) 領域の配列を図 3 に示した。Pribnow¹⁸⁾ は配列の決定された数種のプロモーターに共通なヌクレオチ

図 2 RNase T_1 でできるオリゴヌクレオチドの PEI-セルローズ 2 次元薄層クロマトグラム
Hap C 断片を $\text{R}\cdot\text{Hae}$ で切断してできる G3 プロモーターを含む断片を鋳型とし (^{32}P) GTP を基質として RNA をつくった。ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離精製後 RNase T_1 で加水分解し、PEI-セルローズ薄層クロマトグラフィーで展開した。1 次元の溶媒: 1.4-2.3 M ギ酸リチウム, 7 M 尿素, PH 3.5. 2 次元の溶媒: 0.8 M 塩化リチウム, 7 M 尿素, 0.02 M Tris, PH 8.0

ド配列として $5'-\text{T-A-T-R-A-T-G}-$ が RNA 合成の開始点から約 10 ヌクレオチド対上流を中心にして存在することをみつけた。図中の $-\text{T-A-T-A-A-T}-$ がこれに対応しており 2 つのプロモーターに共通な配列である。

図 3 G2, G3 プロモーター領域のヌクレオチド配列。切断点地図、遺伝子地図
 $\text{R}\cdot\text{Hap I}$, $\text{R}\cdot\text{Hga I}$, $\text{R}\cdot\text{Hha I}$, $\text{R}\cdot\text{Alu I}$, $\text{R}\cdot\text{Hae III}$, $\text{R}\cdot\text{Hph I}$, $\text{R}\cdot\text{Hinf I}$ による切断点と G2, G3 プロモーター、ターミネーターを示した。□は G2, G3 プロモーター領域のヌクレオチド配列での共通部分を示す。(+)鎖のみ図示してある。

5. プロモーターに共通な一次構造

比較検討のため現存までに決定されているプロモーターのヌクレオチド配列のRNA合成開始点上流約50ヌクレオチドまでを表2に示した。Lac, Gal プロモーターは上流約60ヌクレオチド対附近に正の制御である“CAP”結合部位, Lac, Gal, λP_L , λP_R , Trpなどのプロモーターには負の制御であるレプレッサー結合部位が存在し, そのヌクレオチド配列上の位置も知られているのが表では省いてある。

前述したようにRNAポリメラーゼはプロモーター部位と安定な複合体を形成する。すい臓DNase Iで複合体を処理すると約45塩基対の2本鎖DNAがDNaseで分解されない断片として分離することができる。^{19, 20} この断片の中央にRNA合成開始点が含まれており開始点上流20~25塩基対までが複合体中に含まれている。Pribnowの7塩基対は合成開始点上流約10塩基対(DNA 2重らせんの1ピッチ)を中心として存在しており, 複合体形成に重要な機能をはたしているものと考えられる。ただしTrpのプロモーターではPribnowの7塩

基対に対応するヌクレオチド配列は存在せず, この構造が必須であるとは必ずしもいえないかもしれない。

表2には示していない開始点下流には共通構造はみいだされていない。

プロモーター機能発現のためには複合体からDNase I処理で得られる約45塩基対のDNA断片だけでは不十分であり, 開始点上流約40塩基対までが必要であってこの領域がRNAポリメラーゼと相互作用していることを示唆する事実がいくつか知られている。この領域の共通構造と思われるものを表2に示してある(-G-T-T-G-A-C-A-C-T-T-T-)。1) RNAポリメラーゼとの複合体をDNase Iではなく λ エキソヌクレアーゼと1本鎖DNAに特異的なS1ヌクレアーゼの組み合せて処理すると40~45塩基対のDNA断片より長いものが得られる。²¹ 2) λP_L , λP_R のプロモーター領域でR・Hind Iで切断される配列²²G-T-T²³G-A²⁴C-がRNAポリメラーゼ共存下ではR・Hind Iによる切断から保護される。^{22, 23} 3) この領域での負のプロモーター変異が存在する(Lac²⁴, λP_L ^{22, 23, 25}), λP_{RM} ^{25, 26} 4) 複合体から分離した40~45塩基対の

表2 種々のプロモーターの一次構造と共通配列

プロモーター	ヌクレオチド配列 (5' → 3')	文 献
fd G3	ATGATACAAATCTCCGTTGTACTTTGTTTCGCGCTTGGTATAATCGTGGGTC	17
G2	CTCTTAATCTTTTGTATGCAATTCGCTTTGCTTCTGACTATAATAGACAGGTA	15, 16, 27
G1	ATTAACGTTTACAATTTAAATATTTGCTTATACAATCATCCTGTTT	43
SV40	TGAATGCAATTGTTGTTGTTAACTTGTATTATGCAGCTTATAATGGTTACAAAT	44
Lac	TAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCGGCTCGTATGTTGTGGAATT	24
tRNA ^{tyr}	TTTCTCAACGTAACACTTTACAGCGGCGGTCATTTGATATGATGCGCCCCGCT	45
Gal	ATTTATTCCATGTCACACTTTTCGCATCTTTGTTATGCTATGGTTATTTTCATAC	46
λP_L	TTATCTCTGGCGGTGTTGACATAAATACCACTGGCGGTGATACTGAGCACATCA	47, 48
P_R	CTAACACCGTGCGTGTTGACTATTTTACCTCTGGCGGTGATAATGGTTGCATGT	29
P_O	TTACCTCTGCCGAAGTTGAGTATTTTGTGCTATTTGTCATAATGACTCCTGTT	49
P_{RM}	GTCACACGCGCGGTGTTAGATATTTATCCCTTGGCGGTGATAGATTTAACGTAT	21, 50
T7 A2	GAAGTAACATGCAGTAAGATACAAATCGCT	18
A3	GAAGTAAACACGGTACGATGTACCACATG	30
Trp	ACAAATTAATCATCGAACTAGTTAACTAGTACGCAAGT	51

ヌクレオチド配列は合成されるRNAと同じ鎖(+鎖)のみが示してある。—: 認識部位, =: 結合部位, |: 転写開始部位

DNA 断片や^{18, 27-29} R・Hha I (−16〜−18) で切断した fdG3¹⁷, R・Hind III (−33) で切断した λP_L²²) ではもはや正常なプロモーター活性 (定まった開始点からの RNA 合成, RNA ポリメラーゼとの複合体形成) がない。

プロモーターの機能部位を RNA ポリメラーゼとの相互作用と関連させて, 認識部位, 結合部位, 転写開始部位の3つの部位に分けることがひろく受け入れられている。^{24, 30} 上述の開始点上流 30〜40 塩基対附近を認識部位, Pribnow の 7 塩基対を結合部位にそれぞれ当てはめている。このモデルでは遊離の RNA ポリメラーゼまたは“CAP”部位に結合した“CAP”と相互作用している RNA ポリメラーゼは先ず認識部位と相互作用し, 次に結合部位に移動し安定な複合体を形成し, 続いて転写開始へと進んでいく。

以上2つの共通のヌクレオチド配列 (−T-A-T-R-A-T-G- と −G-T-T-G-A-C-A-C-T-T-T-) の存在を強調してきたが, これらの配列と RNA ポリメラーゼとの具体的な相互作用の機構は全く不明である。RNA ポリメラーゼのサブユニットとの関係を含め今後の課題であろう。

プロモーター機能の共通性ととともにそれぞれのプロモーターのもつ差違もまた大きい。正の制御を受けなければほとんど RNA 合成をしないもの, 負の制御を司るサプレッサーの結合部位の位置も様々である。in vitro の反応でも塩濃度の変化に対する RNA 合成量変化の挙動もプロモーターによって大きな差がある。各々のプロモーターのもつ共通配列からのずれやその他の

領域の配列の影響など複雑な要素がからんでいるのだろう。

6. fd G3 プロモーターの in vitro での組み換え⁵²⁾

fd G3 プロモーター領域には RNA 合成開始点上流 15〜18 塩基対に R・Hha I の切断認識部位 $\frac{5'}{3'} \text{G-C-G-C-G}$ が存在する。この切断によって G3 プロモーターの機能はなくなる。すなわち GTP 共存下で RNA ポリメラーゼと安定な複合体を形成しなくなり, 正常な開始点からの RNA 合成がみられなくなる。

R・Hha I で切断し開始点を含む DNA 断片にスクレオチド配列の決定されている種々の DNA 断片を T₄ DNA リガーゼを用いて結合させた。R・Hha I によってできた2つの切断点はそのままでリガーゼによって結合することができる。他の制限エンドヌクレアーゼによってできた切断点と結合させるときには T₄ DNA ポリメラーゼの 3'→5' のエキソヌクレアーゼ活性と 5'→3' のポリメラーゼ活性を利用し DNA 断片の 3' 末端を 5' 末端にそろえてからリガーゼを働かせ結合する。もし認識部位と呼ばれている特異的なヌクレオチド配列をもった構造がプロモーター機能に必須であるとすれば, リガーゼ反応でつなぎ合わせてつくった DNA 断片の多くはプロモーター活性を回復しないと予想される。

結合させる DNA 断片及びそのヌクレオチド配列は図 4, 図 5 に示した。プロモーター活性は RNA ポリメラーゼとの複合体形成能で測定した。正常な開始点から合成が始まっているかどうかはできた RNA の大きさをポリアクリルアミドゲル電気泳動で測り, さらに RNA を

図4 G3 プロモーター領域の DNA リガーゼによる組み換え
用いた DNA 断片は図 5 を参照。() 内の DNA 断片はプロモーター活性をもたない。

図5 DNAリガーゼ反応に用いたHap C断片の切断点地図とリガーゼ反応でできたプロモーター活性をもつDNA断片のヌクレオチド配列
種々の制限エンドヌクレアーゼによる切断でできる末端にa, b, c, ..., h, i, jの順番をつけた。'のついたものはT4 DNAポリメラーゼ処理してある。ヌクレオチド配列(5'→3')は(+)鎖のみを示した。

RNase T₁で分解しPEI-セルロース2次元薄層クロマトグラフィーで調べた。これらの方法ではプロモーター活性を定量的に測定することはできない。しかしプロモーター活性の有無を定性的にはあるが特異的に測定できる。この測定法で調べた限りのDNA断片を結合したものでプロモーター活性を回復していた。図5に示したように、R・Hha I部位の上流に結合されたDNA断片には特別な共通配列は存在しない。この結果はfdのG3プロモーターではR・Hha I部位上流にはDNA鎖さえあればどんなヌクレオチド配列であってもプロモーター機能を発現することを示している。おそらく -T-A-T-A-A-T- がG3プロモーターには必要十分な構造なのであろう。前項で述べたようにいくつかのプロモーターでは開始点上流35塩基対近傍に負の突然変異があり、特異的なヌクレオチド配列がプロモーター機能に必要であることを示している。

すべてのプロモーターに共通な反応機構を考えるとこれらの事実は一見矛盾するようにも思える。多くのプロモーターはそれぞれ性質が異なり強いて共通する機構を考える必要はないという意見もあろう。

次に述べるような一応すべてのプロモーターに成り立つモデルを考えてみた。RNAポリメラーゼが“CAP”、認定部位、結合部位、合成開始部位へと順次進行するのではなく、同時に各部位と相互作用するいわゆる“合奏機構”でプロモーター機構を発揮するものとする。fd

のG3プロモーターではR・Hha I切断点以後、多分 -T-A-T-A-A-T- がRNAポリメラーゼと強力に相互作用するため他の部分との相互作用が弱くてもプロモーター機能を発現できる。

-T-A-T-A-A-T- が“強い”プロモーターと関係があることを示す事実として、“CAP”による正の制御がなくてもRNA合成が能率よく開始されるLacのプロモーター変異株UV5では(-T-A-T-G-T-T-)が(-T-A-T-A-A-T-)に変わっていることが知られている。³¹⁾ プロモーター機能の強弱はRNAポリメラーゼの各部位との相互作用の総和として表現されるのであろう。このモデルに従えば認識部位、結合部位の名称は適当とは思われない。リガーゼ反応で結合してつくれたプロモーター活性をもつDNA断片も活性に強弱があることを示唆する結果を得ており定量的測定が可能になればさらに興味ある結果が得られよう。

7. G3プロモーターは遺伝子VIIと重なっている

fd G3プロモーターはfd RF-DNAをR・Hap Iで切断してできるDNA断片Hap C上にある(図1, 3, 5)。筆者らはプロモーター領域を含むG3RNA合成開始点上流99ヌクレオチドと369ヌクレオチドのG3 RNAの配列を決定した。^{17, 32)} このRNAにはすでにアミノ酸配列の決定されているコート蛋白質B(50アミノ酸残基)^{33, 34)}の遺伝子コードを含んでおりこのコート

図6 遺伝子 V, VII, VIII, G3 プロモーター領域, RNA 合成終止部位の一次構造
遺伝子 VII のアンバー変異株 7 amH2, 7 amH3 の C→T への変異を示した。G3 プロモーターは遺伝子 VII の内部に含まれる。それぞれの遺伝子コードの最初と最後のアミノ酸残基を示した。

蛋白質 (遺伝子 VIII) にはアミノ末端に 23 アミノ酸残基をもつ前駆体があることを明らかにした。しかし RNA 合成開始点の上流 99~92 スクレオチド配列に遺伝子 V (1 本鎖 DNA 合成に必須で配列の決定されているアミノ酸残基 88 から成る蛋白質³⁵⁾の構造遺伝子) の最後の部分、即ち -Pro-Ala-Lys の遺伝子コードを含んでいることを見落していた。最近 Schoenmakers にこの点を指摘された。さらに彼らは遺伝子 V と VIII との間に存在するがまだ蛋白質が *in vivo*, *in vitro* 共に同定されていない遺伝子 VII の 2 つのアンバー変異 7 amH2 と 7 amH3 の位置を明らかにした。³⁶⁾ このアンバー変異の遺伝子コードのフレームに合わせると遺伝子 VII の蛋白質のアミノ酸配列を予測することができる。図 6 に示すように、G3 プロモーターは完全に遺伝子 VII の中に含まれていることになる。まだ遺伝子 VII の産物の機能は全く不明であるが遺伝子 VII の 150 塩基対中プロモーター領域がかなりの部分を占めており進化の過程でどんな影響を及ぼし合ってきたのであろうか。fd G2 プロモーターも遺伝子 II の内部に存在している可能性が多い。最近 φX174 のいくつかの遺伝子が重なり合っていることが判明したが、³⁷⁾ 1 つのスクレオチド配列が 2 つの機能を合せ持っていることになる。新しい問題提起である。

8. おわりに

図 4 に示したようにすでに 10 数個のプロモーターの一次構造が決定されている。新しい制限エンドヌクレアーゼも次々と発見され、DNA のスクレオチド配列の決定も Sanger-Coulson 法³⁸⁾や Maxam-Gilbert 法³⁹⁾の開発でスピードアップしてきた。さらに新しいいくつかのプロモーターの一次構造も決定されるであろうし、新しいプロモーター変異株の分離も進行するであろう。今後プロモーター機能も RNA ポリメラーゼと関連させ詳細な機構解明が進展することを期待している。

RNA 合成の開始とともにその終止も重要な課題である。プロモーターには RNA ポリメラーゼの σ サブユニットが関係しているのに対応して、ターミネーターには ρ 因子が重要な役割りを担っている。fd には 1 つのターミネーターが存在する。その一次構造決定が現在進行している。またの機会に紹介したいと思う。

文 献

- 1) D. A. Marvin, H. Hoffman-Bering, Z. Naturf., 18b, 884 (1963)
- 2) D. A. Marvin, B. Hohn, Bacteriol. Rev., 33, 172 (1969)

- 3) R. R. Burgess, A. A. Travers, J. J. Dunn, E. K. F. Bautz, *Nature*, **221**, 43 (1969)
- 4) H. O. Smith, K. W. Wilcox, *J. Mol. Biol.*, **51**, 379 (1970)
- 5) T. J. Kelly Jr., H. O. Smith, *J. Mol. Biol.*, **51**, 393 (1970)
- 6) M. Takanami, T. Okamoto, K. Sugimoto, H. Sugisaki, *J. Mol. Biol.*, **95**, 21 (1975)
- 7) C. A. Hutchison III, M. H. Edgell, *J. Virology*, **8**, 181 (1971)
- 8) P. H. Seeburg, H. Schaller, *J. Mol. Biol.*, **92**, 261 (1975)
- 9) C. A. van den Hondel, A. Weijers, R. N. H. Konings, J. G. G. Schoenmakers, *Eur. J. Biochem.*, **53**, 559 (1975)
- 10) K. Horiuchi, G. F. Vovis, V. Enea, N. D. Zinder, *J. Mol. Biol.*, **95**, 174 (1975)
- 11) C. A. van den Hondel, J. G. G. Schoenmakers, *J. Virology*, **18**, 1024 (1976)
- 12) M. Sugiura, T. Okamoto, M. Takanami, *J. Mol. Biol.*, **43**, 299 (1969)
- 13) M. Takanami, T. Okamoto, M. Sugiura, *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, **35**, 179 (1970)
- 14) T. Okamoto, K. Sugimoto, H. Sugisaki, M. Takanami, *J. Mol. Biol.*, **95**, 33 (1975)
- 15) K. Sugimoto, T. Okamoto, H. Sugisaki, M. Takanami, *Nature*, **253**, 410 (1975)
- 16) K. Sugimoto, H. Sugisaki, T. Okamoto, M. Takanami, *Nucleic Acids Res.*, **2**, 2091 (1975)
- 17) M. Takanami, K. Sugimoto, H. Sugisaki, T. Okamoto, *Nature*, **260**, 297 (1976)
- 18) D. Pribnow, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 784 (1975)
- 19) T. Okamoto, M. Sugiura, M. Takanami, *Nature New Biol.*, **237**, 108 (1972)
- 20) B. Heyden, C. Nusslein, H. Schaller, *Nature New Biol.*, **240**, 9 (1972)
- 21) M. Ptashne, K. Backman, M. Z. Humayun, A. Jeffrey, R. Maurer, B. Meyer, R. T. Sauer, *Science*, **194**, 156 (1976)
- 22) R. Maurer, T. Maniatis, M. Ptashne, *Nature*, **249**, 221 (1974)
- 23) B. Allet, R. Solem, *J. Mol. Biol.*, **85**, 475 (1974)
- 24) R. C. Dickson, J. Abelson, W. M. Barnes, W. S. Reznikoff, *Science*, **187**, 27 (1975)
- 25) B. Meyer, D. Kleid, M. Ptashne, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 4785 (1975)
- 26) D. Kleid, Z. Humayun, A. Jeffrey, M. Ptashne, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **73**, 293 (1976)
- 27) H. Schaller, C. Gray, K. Herrmann, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 737 (1975)
- 28) B. Heyden, C. Nusslein, H. Schaller, *Eur. J. Biochem.*, **55**, 147 (1975)
- 29) A. Walz, V. Pirrotta, *Nature*, **254**, 118 (1975)
- 30) D. Pribnow, *J. Mol. Biol.*, **99**, 419 (1975)
- 31) W. Gilbert, J. Gralla, J. Majors, A. Maxam, "Lactose Operator Sequences and the Action of Lac repressor" in *Protein-Ligand interactions*, (ed. H. Sund, G. Blauer) Walter de Gruyter, Berlin (1975)
- 32) K. Sugimoto, H. Sugisaki, T. Okamoto, M. Takanami, *J. Mol. Biol.*, **111**, 487 (1977)
- 33) F. Asbeck, K. Beyreuther, H. Köhler, G. von Wettstein, G. Braunitzer, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **350**, 1047 (1969)
- 34) Y. Nakashima, W. Koningsberg, *J. Mol. Biol.*, **88**, 598 (1974)
- 35) Y. Nakashima, A. K. Dunker, D. A. Marvin, W. Koningsberg, *FEBS Lett.*, **40**, 290 (1974)
- 36) J. G. G. Schoenmakers, 私信
- 37) B. G. Barrell, G. M. Air, C. A. Hutchison III, *Nature*, **264**, 34 (1976)
- 38) F. Sanger, A. R. Coulson, *J. Mol. Biol.*, **94**, 441 (1975)
- 39) A. M. Maxam, W. Gilbert, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **74**, 560 (1977)
- 40) G. F. Vovis, K. Horiuchi, N. D. Zinder, *J. Virology*, **16**, 674 (1975)
- 41) S. Schlagman, S. Hattman, M. S. May, L. Berger, *J. Bact.*, **126**, 990 (1976)
- 42) M. Takanami, *FEBS Lett.*, **34**, 318 (1973)
- 43) P. H. Seeberg, C. Nusslein, H. Schaller, *Eur. J. Biochem.*, in press
- 44) R. Dhar, S. M. Weissman, B. S. Zain, J. Pan, A. M. Lewis, *Nucleic Acids Res.*, **1**, 595 (1974)
- 45) T. Sekiya, M. J. Gait, K. Noris, B. Ramamoorthy, H. G. Khorana, *J. Biol. Chem.*, **251**, 4481 (1976)
- 46) R. Musso, R. D. Lauro, M. Rosenberg, B. de Crombrughe, J. Sklar, S. Weissman, 未発表

- 47) T. Maniatis, M. Ptashne, B. G. Barrell, J. Donelson, Nature, 250, 394 (1974) 665 (1976)
- 48) T. Maniatis, M. Ptashne, K. Backman, D. Kleid, S. Flashman, A. Jeffrey, R. Maurer, Cell, 5, 109 (1975) 51) G. N. Bennett, M. E. Schweingruber, K. D. Brown, C. Squires, C. Yanofsky, Proc. Nat. Acad. Sci., 73, 2351 (1976)
- 49) G. Scherer, G. Hobom, H. Kössel, Nature, in press 52) T. Okamoto, K. Sugimoto, H. Sugisaki, M. Takanami, to be published
- 50) A. Walz, V. Pirrotta, K. Ineichen, Nature, 262, (1977年2月22日受理)

ABSTRACT

Structure of Promoter Regions on Bacteriophage fd DNA

Kazunori SUGIMOTO

Institute for Chemical Research, Kyoto University, Uji, Kyoto

In order to define the primary structure in promoter, two high level promoters contained in bacteriophage fd DNA have been sequenced. Comparison of two sequences however indicated that the longest sequence common to both was only TATAAT in the non-transcribed part of the region where RNA-polymerase forms a stable initiation complex. One of the promoters sequenced contained an R. *Hha* I cleavage site five base pairs upstream from the TATAAT sequence, and cleavage destroyed promoter function. This promoter was cleaved into two pieces at this site and DNA fragments derived from other regions were joined to the resulting fragments. Ligation of any fragment examined to the TATAAT-containing fragments restored promoter function. On the basis of these observations, the structure essential for the function of fd promoter is discussed.

物理学叢書【編集】小谷正雄・小林 稔
井上 健・山本常信・高木修二
開拓者によるオリジナリティに富んだ世界的名著の邦訳・適切な訳注・解説

量子化学

— 方法と応用 —

ドーデル
ルフェヴル 共著
モエザ
大鹿 譲 他訳

量子化学の本は数多く出版されているが、本書は理論と実用性のバランス、およびその配列の順序に独創的な長所を持っている。第一部では簡単な理論を複雑な分子に適用して種々の化学現象を見事に説明し、物理学者は敬遠しがちな複雑な分子現象を美しい理論体系にのせている。また化学者、とくに有機化学者には親しみの多い現象を通して、理論の世界へ導いている。第二部では、量子力学的取扱いが簡単な分子から複雑な分子にわたって展開され、量子力学を分子系に適用する技術がくわしく述べられている。

580頁 3,500円

発行

吉岡書店

606 京都市左京区田中門前町87
075(781)4747 振替 京都4624

※図書目録を
ご請求下さい。