



Title	酵母プラスミドpSR1の分子的ならびに機能的構成
Author(s)	Amornrat, Jearnpipatkul
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35367
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【2】

氏名・(本籍)	アモンラット・ジアンビバクン AMORN RAT JEARN PIPATKUL
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	第 7708 号
学位授与の日付	昭和 62 年 3 月 26 日
学位授与の要件	工学研究科醸酵工学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	酵母プラスミド pSR 1 の分子的ならびに機能的構成
論文審査委員	(主査) 教授 大嶋 泰治 教授 合葉 修一 教授 田口 久治 教授 高野 光男 教授 岡田 弘輔 教授 菅 健一 教授 山田 靖宙

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* 由来の pSR 1 プラスミドを解析することにより、*Saccharomyces cerevisiae* 以外の酵母における宿主・ベクター系の構築に必要な知見を得ることを目的として行った研究をまとめたもので、まえがきと本文 5 章からなっている。

まえがきでは、本研究の目的と研究内容の概略について述べている。

本文第 1 章は緒論であり、*S. cerevisiae* の 2 μm DNA およびその他の酵母種の持つプラスミドについてのこれまでの知見をまとめており、本論文の主課題である pSR 1 プラスミドについて、6,251 塩基対からなる全塩基配列、片方が 959 塩基対からなる 1 対の逆向反復配列と 3 つのタンパク質コード部 P, R および S からなる分子構造について述べている。

第 2 章では、タンパク質コード部を始めとする pSR 1 分子中の機能部位の解析を目的として行った、リンカー挿入による突然変異誘発について述べている。さらに、得られた突然変異プラスミドの若干の性質について調べ、タンパクコード部のひとつである R は、逆向反復塩基配列部において行われる分子内組換に必要なタンパク質をコードすることを示している。

第 3 章では、リンカー挿入法を用いて得られた突然変異の、プラスミド表現型に及ぼす効果を、*S. cerevisiae* と *Z. rouxii* を宿主として調べ、以下の結果を得ている。3 個のタンパク質コード部のうち、P と S はプラスミドの宿主内安定性に対しトランスに効果を示し、P よりの活性実体はタンパク質であり、S はタンパク質と RNA の生産を介して機能すると考察している。また、S タンパクは本来の宿主である *Z. rouxii* 細胞内で、宿主細胞に由来する因子と相互に作用し合うと考えている。さらに、プラスミドの細胞内安定性にシスに働く部位のあることを明らかにしている。

第4章では、プラスミドの安定性にシスに働く領域Zを、制限酵素および*Bal*31ヌクレアーゼ消化により、P領域上流の383塩基対に限定している。また、この領域を破壊したpSR 1プラスミドは、*Z. rouxii*のpSR 1を保持する宿主内でも不安定であり、この場所がシスに安定性に関与していることを確認している。さらに、この領域を破壊した変異にS変異を組み合わせた2重変異プラスミドの安定性は、Z変異だけのプラスミドと変わらないことから、SタンパクはZ領域に働きかけていると説明している。

第5章では、上記の研究結果をまとめ、ベクター構築における成果の応用について考察している。

論文の審査結果の要旨

醸造および醸酵工業では、*Saccharomyces cerevisiae*種の酵母の他に、多くの酵母種が用いられているが、育種はもとより遺伝学的研究は、*S. cerevisiae*などの数種に限られている。しかし、遺伝子工学技術の導入により、これらの酵母種についても育種の道が開けるものと考えられる。本論文は、味噌や醤油の熟成に働く好塞性酵母である*Zygosaccharomyces rouxii*で発見されたプラスミドpSR 1について、ベクターとしての応用を目標に、その構造と機能領域および宿主に対する種特異性を研究したもので、その成果は次のように要約できる。

- (1) pSR 1プラスミドの塩基配列から、一対の大きな逆向反復塩基配列と3個のタンパクコード部が認められ、*S. cerevisiae*の持つ2μm DNAとの塩基配列に相同性は認められないが、構造的には互いによく似たDNA分子であることを示している。
- (2) pSR 1および2μm DNAそれぞれの持つ3種のタンパクコード部が互いに同様な機能を持つことを示している。すなわち、2種はプラスミド分子の宿主内安定性を支配し、他の1種は、それぞれのプラスミドが分子内に持つ一対の逆向反復塩基配列部で行う組換えに必要である。しかし、プラスミド相互の間での機能の相補性は認められず、これら3種のコード域に由来する産物の特異性が互いに異なることを明らかにしている。
- (3) プラスミド分子中に、安定性にシスに働く領域を見いだし、この部位を383塩基対に限定すると共に、安定性に必要なタンパクコード域の一つが作るタンパク質あるいはRNAがこの部位に働くことを示している。

以上の研究成果は、遺伝子工学におけるベクター構築の素材となるプラスミドの構造と機能について重要な知見を与えるものである。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。