



Title	酵母GAL7遺伝子に関する研究 酵母GAL7遺伝子の誘導 発現機構解明とその応用
Author(s)	田島, 正裕
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36684">https://hdl.handle.net/11094/36684</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;</a> 大阪大学の博士論文につい て <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">&lt;/a&gt;</a> 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

氏名・(本籍)	た　　じま　　まさ　　ひろ
学　位　の　種　類	工　　学　　博　　士
学　位　記　番　号	第　　8　2　9　6　　号
学位授与の日付	昭 和 63 年 6 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	酵母 <i>GAL7</i> 遺伝子に関する研究 酵母 <i>GAL7</i> 遺伝子の誘導発現機構解明とその応用
論文審査委員	(主査)
	教　授　岡田　弘輔
	(副査)
	教　授　山田　靖宙　　教　授　高野　光男　　教　授　大嶋　泰治 教　授　菅　　健一　　教　授　二井　将光

## 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は *Saccharomyces* 酵母のガラクトース誘導性遺伝子, *GAL7* の転写調節機構を分子遺伝学的に解明し, 得られた知見に基づいて *GAL7* 遺伝子のプロモーターを用いて酵母誘導型発現ベクターを開発したものである。

第 1 章ではガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼをコードする遺伝子 *GAL7* の DNA 塩基配列を決定し, その転写領域の決定を行っている。*GAL7* は 1,200bp の長さで転写され, そのうち 1,095bp が蛋白質をコードしていることを明らかにしている。

第 2 章ではプラスミドにクローン化した *GAL7* 遺伝子中に大腸菌由来の *lac'Z* 遺伝子を挿入して作成した *GAL7-lac'Z* 融合遺伝子を用い, 各種調節遺伝子変異株内での  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性の変動を測定している。その結果からプラスミド上でも *GAL7* 遺伝子は染色体上と同様にガラクトースによる調節を受けることを明らかにしている。

第 3 章では *GAL7* 遺伝子の上流領域を解析してガラクトースによる誘導転写に必要な領域を決定している。5' 非翻訳上流領域を種々の長さで欠失した *GAL7-lac'Z* 融合遺伝子を作成し, 融合遺伝子のガラクトースによる誘導発現挙動を解析している。その結果 5' 上流領域の 2 種の配列, TATA ボックスと上流活性化配列が必要であり, 上流活性化配列は 2 ケ所に存在する。またこの上流活性化配列は *GAL7* 遺伝子以外のものにおいても十分機能するものである。

第 4 章では *GAL7* 遺伝子のプロモーターを用いた酵母発現ベクターを作成し, 癌遺伝子であるヒトアデノウィルス E I A 遺伝子を酵母で発現させている。E I A 遺伝子は *GAL7* 遺伝子と同様, ガラクトースにより調節をうけ, 生産物は電気泳動的に HeLa 細胞の生産する E I A 蛋白と酷似していた。

## 論文の審査結果の要旨

ヒトを含む真核生物由来の蛋白質を大腸菌などの原核生物に生産させることは、生理活性に必要な糖やりん酸の付加、活性型の高次構造などの点で問題がある場合がある。本論文は真核生物の蛋白質を真核生物である酵母を用いて生産することを目的とし、まず酵母の *GAL7* 遺伝子の誘導発現機構を解明し、そのプロモーターを利用して酵母発現ベクターを開発したものであり、次のような重要な結論を含んでいる。

- (1) *GAL7* 遺伝子をクローン化し、そのDNA塩基配列を決定している。配列中に1,095bpの読み取り可能枠の存在を認めそれがガラクトース-1-りん酸ウリジルトランスフェラーゼの構造遺伝子であることを確認している。
- (2) *GAL7* 遺伝子の転写領域を1,200bpと決定している。
- (3) プラスミドに挿入した *GAL7* 遺伝子が染色体上のものと同様にガラクトースによる調節を受けることを融合遺伝子 *GAL7-lac'Z* を作成し、その挙動から証明している。
- (4) 種々の *GAL7* 遺伝子上流領域を欠失した遺伝子を作成して、ガラクトースによる誘導転写の必要な部分を推定している。その結果TATAボックスとその上流に存在する上流活性化配列が必須であるとしている。*GAL7* には上流活性化配列が2ヶ所に存在している。
- (5) *GAL7* のプロモーターを用いて酵母発現ベクターを作成し、ヒトアデノウイルスEIA遺伝子をクローン化し、EIA蛋白質生産をモデルとしてその有用性を証明している。

以上の結果は酵母 *GAL7* 遺伝子および酵母発現ベクターに関して多くの基礎ならびに応用に関する知見を与えており、酵母遺伝学ならびに遺伝子工学上貢献することが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。