



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Location of a P1 Plasmid Replication Inhibitor Determinant within the Initiator Gene.                                                           |
| Author(s)    | 村磯, 金得                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1992, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37987">https://hdl.handle.net/11094/37987</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">大阪大学の博士論文について</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         | むら いそ かな え                                                                            |
| 博士の専攻分野の名称 | 村 磯 金 得                                                                               |
| 学位記番号      | 博 士 ( 医 学 )                                                                           |
| 学位授与年月日    | 第 1 0 1 5 6 号                                                                         |
| 学位授与の要件    | 平成 4 年 3 月 25 日                                                                       |
|            | 学位規則第 4 条第 1 項該当                                                                      |
|            | 医学研究科 生理系専攻                                                                           |
| 学位論文名      | Location of a P1 Plasmid Replication Inhibitor Determinant within the Initiator Gene. |
|            | (P1 プラスミドの複製, 複製開始因子遺伝子内に存在する阻害因子の研究)                                                 |
| 論文審査委員     | (主査)                                                                                  |
|            | 教 授 丸山 剛郎                                                                             |
|            | (副査)                                                                                  |
|            | 教 授 森本 俊文    教 授 重永 凱男    助教授 野首 孝祠                                                   |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### (目 的)

大腸菌の細胞質因子(プラスミド)は増殖能力を持つ一方、宿主と共存するためそのコピー数を自身制御している。ColEIのような多コピープラスミドは複製開始に必要な転写を逆方向の転写産物(アンチセンス RNA)が阻害することでコピー数を制御している。またF因子のような低コピープラスミドではその複製開始因子(イニシエータ)が複製開始領域近傍に結合することで複製を開始するが、その複製開始因子が、1) 複製開始因子遺伝子自身のプロモーターに結合して複製開始因子の生産を抑制する、2) 複製開始因子が不和合性領域に結合することで複製開始の頻度を抑制する、ことでコピー数が制御されていると考えられている。

P1 プラスミドは後者の低コピープラスミドである。これまでのコピー数制御の考え方によれば細胞内に複製開始因子(RepA)が増産された場合はコピー数の増加が期待される。しかし実際にはコピー数の増加は観察されず、むしろP1 プラスミドの複製の阻害が観察された。この現象は複製における新たな制御機構を示唆する。そのためこの現象に注目しこの阻害機構の解明を試みた。

### (方法と結果)

この阻害現象はRepAを細胞内で増産させたときに観察された。しかし一方で試験管内のP1 プラスミド複製系では過剰量の精製したRepAを加えてもこの阻害は観察されなかった。このことからRepA自身は複製阻害因子でないと推測されるが、このことをin vivoで確認するため、repA遺伝子の変異体を作成しそれから変異体による阻害効果を観察した。その結果、

1) repAの開始コドンの変異体はRepAを生産できなかったが、阻害効果は残った。

2) repA の N- 末端28残基, C- 末端69残基を削った変異体は阻害効果は残ったが, 両末端ともそれ以上削ると阻害効果は失われた。

3) repA 遺伝子内にコードできる他の読枠を変異させても阻害効果は残った。

このことから RepA 自身はこの複製阻害因子でなく, 不安定な開始因子断片あるいは開始因子の mRNA がこの複製阻害に関与しているものと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

遺伝子の複製の制御は今日の細胞のがん化を考えるまでもなく, 生命の連続性の観点から明らかにされなければならない問題である。本論文は大腸菌の P 1 プラスミドを用いて複製の阻害現象がいかなる機構でおこるかを明らかにしようとしたものであり, これまでに知られる機構とは別のシステムが存在することを示した。この結果は, DNA 複製の制御を考えるうえで重要な知見であり学位論文として価値あるものと認める。