

Title	自己複製素子Q β RNAレプリカーゼの速度論的解析
Author(s)	中石, 智之
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/43379
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	中石智之
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 16992 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学位論文名	自己複製素子 Q β RNA レプリカーゼの速度論的解析
論文審査委員	(主査) 教授 卜部 格 (副査) 教授 小林 昭雄 教授 関 達治 教授 室岡 義勝 教授 原島 俊 教授 塩谷 捨明 教授 福井 希一 教授 吉田 敏臣 教授 金谷 茂則 教授 二井 将光

論文内容の要旨

本論文は、Q β RNA レプリカーゼの速度論的解析についての研究をまとめたものであり、緒言、本論2章、総括からなる。

緒言では、自己複製素子として Q β RNA レプリカーゼが利用可能であるということ、また、Q β RNA レプリカーゼの速度論的解析の意義について記述した。

第1章では、Q β RNA レプリカーゼの β サブユニットタンパク質のC末端に His-tag を付け、従来の方法よりも簡便に酵素を精製する方法について述べた。培養液あたりの収率は、従来の方法に比べおよそ1.5倍に向上した。精製した His-tag の付いた Q β RNA レプリカーゼの性質を、野生型の Q β RNA レプリカーゼと比較した。その結果、His-tag 付きの Q β RNA レプリカーゼの比活性は、野生型の Q β RNA レプリカーゼの比活性に比べて、およそ半分程度であった。しかし、Q β ゲノム RNA と MDV-poly(+) RNA を鋳型として RNA 合成活性を比較した結果から、His-tag 付きと野生型の Q β RNA レプリカーゼの鋳型特異性は同じであることがわかった。

第2章では、精製した His-tag 付き Q β RNA レプリカーゼを用いて、速度論的解析をおこなった。Q β RNA レプリカーゼによる RNA の伸長反応を理解、分析するために速度式を導出した。ATP、UTP、GTP、CTP の様々な濃度の組み合わせで、MDV-poly(+) RNA を鋳型として Q β RNA レプリカーゼの複製反応を測定し、速度式に含まれる、それぞれのパラメーターを求めた。求めたパラメーターから Q β RNA レプリカーゼの複製反応について、以下の特徴が見出された。1) CTP の取り込み速度は速い。2) GTP の取り込み速度は遅い。3) ATP が他のすべての基質の取り込みを強く阻害する。

最後に、以上で得られた知見を総括し、今回求めた Q β RNA レプリカーゼによる RNA 複製反応に関するパラメーターから、自己複製系を構築する際、どのような条件で反応させるのがよいかについて述べた。

以上、本論文では自己複製素子 Q β RNA レプリカーゼの速度論的解析について論じた。

論文審査の結果の要旨

本論文では、大腸菌 RNA フェージの一つである Q β フェージ由来の Q β RNA レプリカーゼの β サブユニットタ

ンパク質のC末端に His-tag を付け、従来の方法よりも簡便に酵素を精製する方法について述べている。精製した His-tag 付き Q β RNA レプリカーゼを用いて、速度論的解析をおこなっている。RNA の伸長反応の際、ATP、UTP、GTP、CTP が、あるときは基質として、また別のときには基質の取り込みに対する阻害物質として働く複雑な反応について、速度式に含まれる、それぞれのパラメーターを求めている。

以上のように、本論文は、RNA の伸長という複雑な反応に関し、それぞれの基質の特徴的な性質を明らかにした。ここにおいて得られた知見は、Q β RNA レプリカーゼを用いた自己複製系の構築に貢献するものであり、よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。