The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	自己複製素子Qβ　RNAレプリカーゼの速度論的解析
Author(s)	中石, 智之
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43379
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

【19】

氏　　名	中石智之（なかいしともゆき）
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QβRNA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　將光

論文内容の要旨

本論文は、QβRNA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、自己複製系素子としてQβRNAレプリカーゼが利用可能であるということ、また、QβRNA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、QβRNA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QβRNAレプリカーゼの性質を、野生型のQβRNAレプリカーゼと比較した。その結果、His-tag付きのQβRNAレプリカーゼの比活性は、野生型のQβRNA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、Qβ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QβRNA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QβRNAレプリカーゼを用いて、速度論的解析をおこなった。QβRNA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QβRNA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。求まったパラメーターからQβRNA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、今回求まったQβRNA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QβRNA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ファージの一つであるQβファージ由来のQβRNA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QβRNA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、QβRNA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。