

Title	放線菌プラスミドpSN22の接合伝達に必要なタンパク質TraRおよびTraBの分子生物学的解析
Author(s)	古園, さおり
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3110036
DOI	10.11501/3110036
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	古園 さおり		
博士の専攻分野の名称	博士(工学)		
学位記番号	第 12467 号		
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科醗酵工学専攻		
学位論文名	放線菌プラスミド pSN22 の接合伝達に必要なタンパク質 TraR および TraB の分子生物学的解析		
論文審査委員	(主査)		
	教授 吉田 敏臣		
	教授 関 達治	教授 今中 忠行	教授 卜部 格
	教授 大嶋 泰治	教授 塩谷 捨明	教授 菅 健一
	教授 山田 靖宙	教授 室岡 義勝	教授 小林 昭雄
	教授 二井 将光	教授 金谷 茂則	

論文内容の要旨

本論文は、細胞間の DNA 伝達機構を解明することを目標として、放線菌プラスミド pSN22 を対象に、接合伝達に必要なタンパク質である TraR および TraB の機能を分子生物学的手法を用いて解析した一連の研究成果をまとめたもので、以下の緒論および 4 章から構成されている。

緒論では、プラスミド伝達に関する研究の背景を総括し、放線菌プラスミドの接合伝達に関する研究の位置づけと、その意義について述べるとともに、本論文の目的について述べている。

第 1 章では、プラスミド伝達機能の発現に重要である伝達関連遺伝子発現の制御因子 TraR と遺伝子発現のプロモーター領域間相互作用について、in vivo および in vitro の両面から検討している。TraR タンパク質は、プロモーター領域内に存在する 4 つの繰返し配列 (TRE box 1 - 4 配列) を結合部位とし、その位置と TraR の結合親和性によって、2 種類のメカニズムによる遺伝子発現の負の制御メカニズムを行うことを示している。効率よいプラスミド伝達には両方のメカニズムが必要であることを示し、pSN22 の接合伝達機構を遺伝子発現制御の面から考察している。

第 2 章では、伝達機構をより具体的に理解するために、接合伝達を支配する TraB タンパク質に見いだされた ATP 結合モチーフの重要性を、遺伝学的手法により明らかにしている。TraB タンパク質における ATP 結合モチーフは、細胞間の DNA 伝達に必須であることを明らかにし、TraB タンパク質の機能発現に ATP が必要であることを示唆している。

第 3 章では、TraB タンパク質の局在性について検討した。エピトプタグging法を用いて TraB タンパク質が膜画分に局在することを示し、TraB タンパク質が膜タンパク質である可能性を認めている。また、エピトプタグgingに伴う TraB タンパク質の修飾は、プラスミド伝達効率を低下させた事実から、TraB タンパク質は菌糸間伝達だけでなく、その下流の現象である菌糸内伝達にも関与する可能性を示し、TraB タンパク質の多面的役割を示唆している。

第 4 章では、以上の結果を要約し、本研究で得られた主たる結論を総括するとともに、将来の展望について述べている。

論文審査の結果の要旨

細菌の接合による遺伝子伝達機能は、遺伝子の多様性機構の解析や遺伝子解析・育種において重要である。しかし、接合伝達機能の解析は大腸菌など限られた細菌で研究されており、抗生物質生産等において工業的に重要な微生物である放線菌の接合伝達については、わずかな知見しかない。本論文は、放線菌 *Streptomyces nigrifaciens* 由来の接合伝達プラスミド pSN22上にコードされている菌糸間伝達に関与する遺伝子 (*traB*) に注目し、遺伝子の発現制御、遺伝子産物であるタンパク質 (TraB) の機能を、分子生物学的手法を用いて解析を行ったものであり、以下に要約するように、いくつかの新しい事実を見出すとともに、二、三の重要な提案を行っている。

(1) プラスミド伝達に重要である TraB タンパク質をコードする *traB* 遺伝子の発現が、発現制御タンパク質である TraR によって、負に制御されていることを示している。特に、*traB* 遺伝子のプロモーター領域の解析を通して、発現制御には二種類のメカニズムが関与していることを示し、接合伝達過程における *traB* 遺伝子発現制御の役割についてモデルを提案している。

(2) TraB タンパク質の機能について、遺伝学的あるいは分子生物学的手法を用いて重要な知見を得ている。すなわち、TraB タンパク質に存在する ATP 結合モチーフに注目し、*traB* 遺伝子内変異の解析から、このモチーフが本タンパクの機能に必須なことを示し、機能発現に ATP が関与していることを示唆した。また、エピトープタグging法を用いて、Tra タンパク質が膜画分に局在していることを明らかにしている。

以上のように、本論文は、放線菌における接合による遺伝子伝達機構に関する新しい提案を行っており、微生物学ならびに微生物遺伝学に貢献するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。