Osaka University Knowledge Archive

Title	Saccharomyces cerevisiae における遺伝子発現調節部位の構造と機能
Author(s)	林, 直之
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3085216
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【13】

氏名・(本籍)	林(はやし)　直(なお)　之(ゆき)
学位の種類	工　学　博　士
学位記番号	第　9728　号
学位授与の日付	平成3年3月26日
学位授与の要件	工学研究科　醗酵工学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	***Saccharomyces cerevisiae* における遺伝子発現調節部位の構造と機能**
論文審査委員	(主査) 教授　大嶋　泰治　　教授　今中　忠行　　教授　山田　靖宙 教授　高野　光男　　教授　菅　健一　　教授　吉田　敏臣 教授　二井　将光

論文内容の要旨

本論文は，*Saccharomyces cerevisiae* におけるアミノ酸生合成系一般制御支配下にある *HIS 5* 遺伝子および抑制性アルカリ性ホスファターゼ構造遺伝子 *PHO 8* 発現調節領域の機能についての研究成果をまとめたもので，緒論，本文3章と総合考察から構成されている。

第1章は緒論であり，酵母における遺伝子発現制御モデルの概略と，その知見の発酵工学における意義について述べている。

第2章では，*HIS 5* 遺伝子のタンパクコード域を1,152塩基対に限定し，その発現制御に関係するプロモーター領域の塩基配列を決定している。次いで，*HIS 5* 遺伝子は翻訳開始コドンから上流37塩基と34塩基の点から転写されることを示し，一般制御は転写レベルで行なわれることを確認している。また，塩基の欠失と挿入変異を造成し，あるいは *HIS 5 − lac Z* 融合遺伝子を構築し，プロモーターの活性を β − galactosidase 活性で測定することにより，翻訳開始コドンより上流202塩基対から277塩基対間の塩基配列が脱抑制に必要であることを示している。

第3章では，*PHO 8* DNAのプロモーター領域の解析結果を述べている。この領域の欠失変異解析で，proximal region（上流502〜548塩基対間）と distal region（上流661〜704塩基対間）の2つの正の制御領域と1つの負の制御領域（上流289〜421塩基対間）を明らかにしている。これら制御領域を含む断片を *HIS 5 − lac Z* 遺伝子上流に結合した *PHO 8 − HIS 5* 融合プロモーターによる β − galactosidase 活性の発現を観察することにより，proximal region にのみ細胞外のリン酸濃度に対応した遺伝子発現調節機能を認めている。

第4章では，β − galactosidase のC末端部位に *PHO 4* タンパクのN末端部位を結合した，β − gala-

ctosidase-PHO 4 融合タンパク質を大腸菌で調製し，*PHO 8* 遺伝子プロモーターと転写制御正因子である *PHO 4* タンパクとの結合を検討し，proximal region を含む上流484～615塩基対間のＤＮＡ断片に，融合タンパク質が結合することを認めている。また，上流525～536塩基対と同じ12塩基対の合成ＤＮＡが結合反応に十分で，その間の塩基配列の変異解析から5′－ＣＡＣＧＴＧ－3′配列が PHO 4 タンパクとの結合に必要であると結論している。

第５章は総合考察であり，転写調節因子間の相互作用と転写因子のプロモーター上の認識配列との関係などについて考察し，遺伝子の人為的調節系構築について述べている。

論文審査の結果の要旨

本論文は，アミノ酸生合成の一般制御系下にある *HIS 5* とホスファターゼ生産調節系下にある *PHO 8* 両酵素構造遺伝子の転写調節領域の構造と機能を明らかにすることにより，遺伝子発現の人為的調節技術に寄与することを目的として行った研究成果をまとめたもので，その主な成果を要約すると次のとおりである。

(1) *S. cerevisiae* の *HIS 5* 遺伝子の塩基配列の決定を行い，タンパクコードとプロモーター領域を明らかにし，プロモーター部の塩基欠失あるいは挿入変異をもつＤＮＡ断片を大腸菌 *lacZ* 遺伝子ＤＮＡに結合した融合遺伝子を構築し，翻訳開始コドンより上流198～202塩基対位と268～272位に存在する２個の5′－ＴＧＡＣＴ－3′配列が，転写正因子であるＧＣＮ４タンパクとの結合と遺伝子の脱抑制に必要であり，最上流の514～518位の5′－ＴＧＡＣＴ－3′配列は機能しないこと，その他の３個の同様な５塩基配列が，信号認識には必要でないが遺伝子発現に寄与することなど，転写正因子認識配列の機能的多様性を明らかにしている。

(2) *S. cerevisiae* の *PHO 8* 遺伝子のプロモーター領域に欠失を導入し，機能領域として，proximal region（上流502～548塩基対間）と distal region（上流661～704塩基対間）の２つの正の制御領域と１つの負の制御領域（上流289～421塩基対間）の存在を明らかにしている。さらに，このうち proximal region を含むＤＮＡ断片が単独で，細胞外のリン酸の有無についての信号を認識する機能をもつことを示している。

(3) *PHO 8* の proximal region に，転写正因子である *PHO 4* タンパクが特異的に結合することを確認し，その結合配列が5′－ＣＡＣＧＴ（Ｇ／Ｔ）－3′であることを明らかにしている。さらに，遺伝子の転写には，この６塩基対の近傍の塩基配列も必須であることを示している。

以上のように，本論文は遺伝子の転写制御領域の構造と機能について理解を深め，クローン化遺伝子の人為的発現制御を可能とすることを示すものであり，基礎遺伝学および発酵工学に寄与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。