

## 修 士 論 文 の 和 文 要 旨

|   |                                |      |         |
|---|--------------------------------|------|---------|
| 研究科・専攻  | 大学院 電気通信学研究科 量子・物質工学 専攻 博士前期課程 |      |         |
| 氏 名   | 松浦 周作                          | 学籍番号 | 0733051 |
| 論 文 題 目   | 高度好熱菌プリンオペロンの発現制御解析            |      |         |
| <p>要 旨</p> <p>&lt;序論&gt;</p> <p>高度好熱菌 <i>Thermus thermophilus</i> (T.t.) は至適成育温度が 70-75℃であり、遺伝子操作ができる生物の中では最も高温で生育する真正細菌の一つである。それゆえ、生体高分子は熱安定性が高く、特にタンパク質の結晶化が比較的容易であることから、構造生物学的に適している。また、高温でも失活しない酵素については、工業的利用も考えられている。<i>Thermus thermophilus</i> のゲノムサイズは 1.8Mbp と真正細菌の中でも小さい部類に属しながら、自立的に増殖するのに必要な遺伝子を一通り持っている。以上より、<i>Thermus thermophilus</i> は構造生物学的な解析や好熱菌の進化的な研究における有用なターゲットである。<i>Thermus thermophilus</i> は原核生物であり、ポリシストロニック・オペロン構造を有する。大腸菌では、それぞれのプリンオペロンのプロモーター領域近傍にオペレーター配列 (PUR box) が存在する。TT1016 遺伝子の制御領域の塩基配列にも PUR box に類似する配列が確認され、さらに TT1016 遺伝子産物(タンパク質)が大腸菌プリンリプレッサー (PurR) と類似性が見られることから、TT1016 タンパク質を T.t. の制御因子候補と考えた。本研究では TT1016 タンパク質と <i>purEK</i> オペロンの制御領域 DNA 断片 (<i>purEK</i> 断片) の相互作用(結合)を確認し、その結合部位の特定を目指した。</p> <p>&lt;実験方法&gt;</p> <p>(1) T.t.ゲノム DNA の精製と <i>purEK</i>断片の増幅および精製<br/> 精製した T.t.ゲノム DNA を鋳型に、目的である <i>purEK</i>断片を PCR によって増幅し、アガロース電気泳動後に切り出し精製を行った。</p> <p>(2)TT1016 タンパク質を大量発現させた粗抽出液の作製<br/> 大腸菌 Rosetta-gami 株中で、TT1016 タンパク質を大量発現させ、粗抽出液を作製した。</p> <p>(3)Gel shift assay<br/> TT1016 タンパク質と <i>purEK</i>断片の特異的結合の有無を調べた。</p> <p>(4)DNaseI footprinting<br/> DNaseI を用いて、<i>purEK</i>断片上の TT1016 タンパク質の結合部位の特定を試みた。</p> <p>&lt;結果&gt;</p> <p>(1)目的 DNA 断片を充分精製することができた。</p> <p>(2) 粗抽出液を精製し、そのタンパク質濃度を定量した。</p> <p>(3)競合実験により、TT1016 タンパク質と <i>purEK</i>断片の結合が特異的であることを確認した。</p> <p>(4)現時点では TT1016 タンパク質の結合部位の特定には至っていない。</p> |                                |      |         |