

## 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	渡辺 大河	学籍番号	0933044
論 文 題 目	高度好熱菌プリンヌクレオチド生合成系オペロンの 発現制御機構に関する研究		
<p>要 旨</p> <p>&lt;序論&gt;</p> <p>真正細菌の物質代謝系オペロンは、種によってかなり構成が異なっている。従って、様々な生物種のエペロンの発現制御機構を明らかにして比較することは、オペロンと遺伝子群がどのようにして形成されたかを解明するために重要な意味を持つ。</p> <p>高度好熱菌 <i>Thermus thermophilus</i> (Tt)のゲノム構造は解明されているが、遺伝子の発現制御機構はほとんど解析されていない。本研究は、Ttのプリンヌクレオチド生合成系オペロンのひとつである <i>purEK</i> オペロンの発現調節候補遺伝子 TT1016、TT1060 の制御の可能性を調べることを目的としており、発現レポーター遺伝子を導入した親株（遺伝子非破壊株）と遺伝子破壊株における <i>purEK</i> オペロンの発現調節の比較、及び、発現調節候補遺伝子産物と <i>purEK</i> 遺伝子発現制御領域 DNA 断片との相互作用の検討によって <i>in vivo</i>、<i>in vitro</i> 両面での解析を行った。</p> <p>&lt;実験方法&gt;</p> <p>(1) S1 ヌクレアーゼマッピングによる転写開始点の決定</p> <p><i>purEK</i> 遺伝子発現制御領域 DNA 断片を作製し、調製した RNA とハイブリダイゼーションを行い、S1 ヌクレアーゼで処理する事によって得た DNA 断片をラダーと共に泳動した。</p> <p>(2) TT1016、TT1060 破壊株の作製</p> <p>2 段階 PCR 法によって作製した TT1016、TT1060 破壊用 DNA 断片を使用して、発現レポーター株(親株)の形質転換を行い、TT1016、TT1060 破壊株のフローズンストックを得た。</p> <p>(3) <i>purEK</i> 遺伝子の発現測定</p> <p>コファクター候補を変えて培養した親株と(2)で作製した破壊株の比活性を測定し、比較した。</p> <p>(4) ゲルシフトアッセイ</p> <p>TT1060 タンパク質を精製し、コファクター候補存在下でのゲルシフトアッセイにより <i>purEK</i> 遺伝子発現制御領域への結合を調べた。</p> <p>&lt;実験結果&gt;</p> <p>(1) <i>purEK</i> オペロンの転写開始点を決定することができた。</p> <p>(2) TT1016、TT1060 破壊株を作製、確認することができた。</p> <p>(3) TT1016、TT1060 双方での <i>purEK</i> 遺伝子の発現制御の可能性を示した。</p> <p>(4) ゲルシフトアッセイでは、コファクターの決定には至らなかった。</p>			