

|         |   |      |    |    |  |
|---------|---|------|----|----|--|
| 氏名(本籍)  | キン・マウン・サイン (ビルマ)  |      |    |    |  |
| 学位の種類   | 理学博士  |      |    |    |  |
| 学位記番号   | 博甲第510号   |      |    |    |  |
| 学位授与年月日 | 昭和63年3月25日  |      |    |    |  |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第1項該当  |      |    |    |  |
| 審査研究科   | 生物科学研究科   |      |    |    |  |
| 学位論文題目  | Deletion mechanism of a cellular slime mold plasmid pDG1 in <i>Eschericia coli</i> : participation of DNA gyrase<br>(細胞性粘菌プラスミド pDG 1 の大腸菌内における欠失機構: 大腸菌 DNA ジャイレースの関与) |      |    |    |  |
| 主査      | 筑波大学教授  | 理学博士 | 内藤 | 豊  |  |
| 副査      | 筑波大学教授  | 理学博士 | 平林 | 民雄 |  |
| 副査      | 筑波大学助教授   | 理学博士 | 山根 | 國男 |  |
| 副査      | 筑波大学助教授   | 農学博士 | 田仲 | 可昌 |  |

## 論 文 の 要 旨

組換え DNA 実験において、外来 DNA が大腸菌の中で欠失を起こすために、大腸菌内でクローン化できなかったり、不安定な DNA 領域が存在することが知られている。本研究は、下等真核生物である細胞性粘菌のプラスミド pDG 1 中の 2.1Kb (Kilobases) DNA 断片が大腸菌内で欠失する現象に注目して、大腸菌における欠失機構を組換え DNA 技術を用いて明らかにしたものである。

第一章では、この欠失に DNA ジャイレースが関与していることを明白に示したものである。すなわち、プラスミド pDG 1 の 2.1kbDNA 断片をベクター pAG60 に連結し、大腸菌に導入すると、1) 大腸菌野生株では形質転換体のうち 22% が、欠失した DNA を有し、新たな DNA 断片 1.0Kb (19%)、1.9Kb (2%) と 2.3Kb (1%) が生じるが、2) DNA ジャイレースが温度感受性になっている isogenioid 株では、調べた範囲では欠失が起こっていなかった。

次に、欠失の結果生じた、1.0kbDNA 断片の欠失部位の DNA 配列を決定した所、もとの 2.1Kb 断片中にある 6 個のほぼ完全な順位反復配列—21塩基対からなり、短い逆位反復配列を形成—のうち、2 個所の部分の間が欠失し、1 個の順位反復配列を残した形で 1.0Kb断片が生じたことが明らかにされた。また欠失部位の配列には、同一株の中に Hae III 部位が異っている 2 つの型が存在していた。

第二章では、欠失によって新たに生じた 1.9Kb と 2.3Kb の DNA 断片について調べている。まず、

制限酵素を用いてこの断片の制限地図を作成している。結果は、長い逆位反復配列が存在する 2.1Kb断片の中心で分けて、A領域とB領域と名づけると、1.9Kb断片ではA領域が、また2.3Kb断片ではB領域が対称に2つ存在する構造であることがわかった。次に、両断片について、欠失によって配列の変化が期待できる、数ヶ所のDNA配列を決定した。この結果から、1.9Kb断片が生じる機構は、2.1KbのDNA断片をベクターに結合するDNA連結反応の際に、2.1Kb断片が2分子対称にベクターに組込まれ、大腸菌に導入された後合計12個の順位反復配列の中で特定の2箇所間で交差が起きると仮定すると説明がつくことが示された。また、2.3KbのDNA断片の場合には、2.1Kbの断片が1.9KbのDNA断片の場合とは逆向きにベクターに2分子入れればよい。このように一見複雑に見える、1.9Kbと2.3Kbの場合も、1.0Kbの欠失断片が生じるのと同じ機構で生じるだろうことが強く示唆された。

## 審 査 の 要 旨

現代の生物学は、組換えDNA技術を用いて飛躍的に発展しつつある。しかし、本論文でも指摘されているように、ある種のDNAでは欠失現象が大きな問題となっている。

本研究は、この問題を解決することを目指して行なわれ、この欠失には大腸菌のDNAジャイレースが関与しており、DNAジャイレースの温度感受性株を用いれば、この欠失を回避できることを初めて明らかにした。この結果は、組換えDNA技術の分野で大きな貢献となろう。

また、欠失は、短い逆位反復配列を持ったほぼ完全な相同配列の所で交差が起きることによって生じ、この反応にDNAジャイレースが関与している可能性を示した最初の実験である点、本研究は高く評価できる。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。