

Title	Saccharomyces cerevisiaeにおける接合型制御遺伝子の構造と機能
Author(s)	向由, 起夫
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3065898
DOI	10.11501/3065898
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	向 由 起 夫
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学位記番号	第 1 0 7 2 7 号
学位授与年月日	平成 5 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科醸酵工学専攻
学位論文名	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> における接合型制御遺伝子の構造と機能
論文審査委員	(主査) 教授 大嶋 泰治 (副査) 教授 高野 光男 教授 新名 惇彦 教授 卜部 格 教授 山田 靖宙 教授 菅 健一 教授 今中 忠行 教授 吉田 敏臣 教授 二井 将光

論 文 内 容 の 要 旨

酵母遺伝子の発現調節に関わる機構の適切な理解は、酵母の育種に必要なばかりでなく、酵母が真核生物であることから、高等生物における遺伝子の働きを理解する上でも重要である。特に、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の接合型制御系には、接合型に直接関係する遺伝子の転写を抑制的に調節する機構がある。本論文は、その接合型制御に直接関係する遺伝子の転写抑制機構についての研究を取りまとめたものであり、緒論、本文 3 章および総合考察から構成されている。

緒論では、酵母の接合型制御機構と真核生物の転写調節機構を要約し、その問題点を指摘している。

第 1 章では、接合型制御タンパク $\alpha 2$ が関係する 2 種類の抑制機能のうち、 $\alpha 2$ ホモ二量体による抑制は正常であるが、 $\alpha 1 - \alpha 2$ ヘテロ二量体による抑制が行われぬ突然変異株と、その遺伝学的解析について述べている。それらの変異は 2 つの相補群に分けられ、その一方は $\alpha 2$ シストロン内に生じた変異であり、分離した 1 株の変異株では、コードするタンパク質の 33 番目のシステイン残基がチロシンに、56 番目のバリン残基がグリシンにそれぞれ置換していることを見いだしている。他方の 10 株からなる変異株は、すべて $\alpha 1 - \alpha 2$ 抑制に必要な新しい制御遺伝子 *AAR1* に生じた変異であることを示している。

第 2 章では、野生型 *AAR1* 遺伝子のクローニングとその性格付けについて述べている。クローン化 DNA の塩基配列から、*AAR1* 遺伝子は様々な遺伝的形質に関係する *TUP1* 遺伝子と同一であることを見いだしている。*aar1* 遺伝子破壊株の解析から、*Aar1*/*Tup1* タンパクは、 $\alpha 1 - \alpha 2$ 抑制ばかりでなく、 $\alpha 2$ ホモ二量体による抑制にも必要であることを明らかにしている。*Aar1*/*Tup1* タンパクの C 末端側には、タンパク・タンパク相互作用に寄与することが示唆されている G タンパク質の β サブユニットに見られる繰り返し配列とよく似た構造を見いだしている。生化学的解析から、*Aar1*/*Tup1* は DNA への結合活性を示さず、 $\alpha 1 - \alpha 2$ 複合体の DNA 結合に必要な因子ではないことを示唆している。

第 3 章では、*Aar1*/*Tup1* タンパクに直接働きかける新しい因子を同定することを目標に、*aar1* 変異に対する抑圧変異の分離を行っている。得られた 7 株の *aar1* 抑圧変異株の全てが、酵母が異性の存在を認知するに働く性フェロモン信号伝達系の *STE* 遺伝子群に生じた変異であることを示し、それら変異株における遺伝子の転写を調べることにより、*STE* 遺伝子産物が *MAT α 1* シストロンの転写に必要なことを明らかにしている。さらにここで得られた *ste5* 変異を相補する DNA 断片として、*STE5* 遺伝子のクローニングを行っている。その塩基配列から読みとら

れるアミノ酸配列が、システイン残基に富んだ領域をもつことから、Ste5タンパク質が性フェロモン信号伝達系の他の因子と相互作用を行う可能性を示唆している。さらに *MAT α* 細胞について特異的に非接合性とする *ste5* 変異は、*a* 接合型特異的遺伝子の転写を十分に減少させることができない漏出変異であることを示している。

総合考察では、これらの知見をもとに、これまでの *S. cerevisiae* 接合型制御モデルに改訂を加え、真核生物における発生・分化機構と転写抑制機構についても考察を行っている。

論文審査の結果の要旨

酵母の育種において、また真核生物の細胞機能を理解するにおいて、酵母遺伝子の発現調節機構の理解は重要である。特に、*Saccharomyces cerevisiae* の接合型制御系には、遺伝子の転写を抑制的に調節する機構がある。本論文は、この *S. cerevisiae* の接合型制御機構について、分子遺伝学的方法による解明を行ったものであり、主な成果は以下のとおりである。

- (1) 酵母の接合型制御タンパク質である $\alpha 2$ は、真核生物における発生と分化に深く関与すると考えられているホメオドメインをもつタンパク質である。本研究では、 $\alpha 2$ タンパク質の接合型制御における2種の抑制機能のうち、一方の $a1 - \alpha 2$ 抑制に特異的に関係するシステイン残基を同定し、さらにこの残基を仲介として、 $\alpha 2$ タンパク質がもう一つの接合型制御タンパク質である *a1* と複合体を作り、目標遺伝子DNAに特異的に結合することを示唆している。
- (2) 新しい接合型制御遺伝子 *AAR1* を同定し、そのクローニングと塩基配列の決定を行い、そのコードするタンパク質のアミノ酸配列を推定し、さらに分子生物学的解析結果を総合して、*Aar1* タンパク質が、単独ではDNA結合活性をもたない、新しい転写抑制因子であることを示唆している。
- (3) *Aar1* タンパク質における変異が様々な細胞活性に影響することから、本タンパク質が、接合型のみでなく、酵母細胞における多くの遺伝子の転写制御機構に関係することを示唆している。
- (4) 性フェロモンからの信号伝達系に含まれる *STE5* 遺伝子についての変異株を分離し、それをもとに野生型遺伝子のクローニングをおこない、*Ste5* タンパク質が、本信号伝達系において、*G* タンパク質からプロテインキナーゼへの信号を仲介すると考える機能モデルを示している。
- (5) *aar1* 変異株および *ste5* 変異株において、多くの接合型制御遺伝子の転写の様相を調べ、フェロモンについての信号と接合型遺伝子よりの信号が、互いに交錯して複雑微妙に接合行動を制御する機構を示している。

以上のように、本論文は酵母の接合行動の解明と共に、一般真核生物における発生と分化について重要な知見を示している。さらに、詳細な遺伝子発現制御系についての知見は、遺伝子工学育種株による有用物質生産にも寄与するところが多い。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。