Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 同質遺伝的背景を持つSaccharomyces cerevisiae倍数体系列株の育成とその利用 |
| Author(s) | 高木, 敦子 |
| Citation | 大阪大学, 1985, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35156 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【1】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 高木敦子（たかぎ あつこ） |
| 学位の種類 | 工学博士 |
| 学位記番号 | 第 6940 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和60年7月3日 |
| 学位授与の要件 | 工学研究科 醗酵工学専攻<br>学位規則第5条第1項該当 |
| 学位論文題目 | **同質遺伝的背景を持つ *Saccharomyces cerevisiae* 倍数体系列株の育成とその利用** |
| 論文審査委員 | (主査)<br>教授 大嶋 泰治<br>教授 合葉 修一　教授 田口 久治　教授 岡田 弘輔 |

## 論文内容の要旨

本論文は，酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の菌株育種を倍数性の面から検討することを目的として，同質遺伝的背景を持つ倍数体系列株を育成し，これらの株を用いて，倍数性の細胞活性におよぼす影響を検討した結果をまとめたもので，4章から成っている。

第1章は緒論であり，生物一般の倍数性についてながめ，農業牧畜における重要性のみならず，生物進化においても高次倍数性は重要な意義をもつことを述べている。実用酵母株にも広く高次倍数体が分布することを示し，本研究の目的を明確にしている。

第2章では，同質遺伝的背景を持つ倍数体系列株の育成について，2種の方法を示している。その1つは，ホモタリズム遺伝子の接合型遺伝子変換作用を利用する方法で，ホモタリズム細胞の培養中に，低頻度で出現する四倍体細胞を効率よく分離するために，eosinY とamaranth をそれぞれ40mg/liter 添加した色素寒天培地を開発している。他の1つは，プロトプラストへのプラスミドDNA 導入による形質転換体が細胞融合体であることを利用したものである。まずこの現象を確かめるために，2種の方法で形質転換体中の細胞融合体の出現頻度を調べている。その1つは同じ接合型を持ち，形質転換体選択符号以外に，互いに相補し合う核遺伝子符号を持つプロトプラストの混合懸濁液に対し，選択符号を持つプラスミドを加えて形質転換を行う方法である。他の1つは，2つある潜在接合型遺伝子の発現が脱抑制された突然変異一倍体にプラスミドを導入し，形質転換体を分離すれば，二倍体化細胞は胞子形成能を示すことから，融合細胞を検出する方法である。これらの方法により，多くの形質転換体は細胞融合体であり，核融合に至らない細胞質混合体も計算にいれると，形質転換体のほとんど全てが細胞融合体であることを示している。この現象を応用して，同質遺伝的背景を持つ一，二，三，四倍体の育成に成

功している。

第3章では，上述の2方法により育成した株を用いて，倍数性の細胞活性におよぼす影響を調べている。一倍体は他の倍数性体に比較して，より高い偶発性呼吸欠損変異細胞の出現頻度を示し，より低い発酵速度を示したが，二，三，四倍体株では，これらの形質についてほぼ同じであると述べている。しかし，異質倍数体は同質倍数体に対し，グルコース栄養培地上で著しく速い発酵速度を示し，工業実用株に高次倍数体が多い理由が雑種強勢にあることを示唆している。さらに，クローン化遺伝子の生産性におよぼす宿主細胞の倍数性の影響を調べ，宿主の倍数性が上昇しても，細胞内プラスミドコピー数に変化がないことを明らかにしている。倍数性が上昇すれば，培養液量あたりの細胞数が減少するので，高次倍数体になるほどクローン化遺伝子の生産性は低下することを示している。

第4章は総括であり，第2，3章の研究成果をまとめ，今後の課題について述べている。

## 論文の審査結果の要旨

本論文は，酵母 *Saccharomyces cerevisiae* における同質遺伝的背景をもつ倍数体系列株育種法の開発と，倍数性の細胞形質におよぼす効果についての研究をまとめたもので，その主な成果は以下のとおりである。

(1) 二倍体ホモタリズム株の培養には，接合型遺伝子座の体細胞組換えに伴い接合型変換を生じ，異接合型二倍体細胞間の接合で生じた四倍体細胞が低頻度で混在している。この四倍体細胞を効率よく分離するために，eosinY とamaranthを添加した色素寒天平板を開発し，その上で暗赤色を示すコロニーを選択する方法を示している。

(2) プラスミドDNAによる酵母プロトプラストの形質転換体のほとんどが，細胞融合体であることを見出し，この知見に基づいて広範囲の *Saccharomyces cerevisiae* 株に応用できる高次倍数体育種法を確立した。

(3) 同質遺伝的背景をもつ一倍体から四倍体株を用いて，種々の細胞形質について倍数性のおよぼす効果を調べ，醸造やパン製造に用いられる酵母株で，無意識のうちに高次倍数体が選ばれた原因はその遺伝情報の豊富さにあり，個々の細胞体積の増加や比表面積の減少など，物理的要因に依らないことを明らかにしている。

(4) 宿主細胞の倍数性がクローン化遺伝子の生産性におよぼす効果を，同質遺伝的背景を持つ倍数体系列株を用いて調べ，倍数性の違いにもかかわらず，細胞あたりの生産性が変化しないことを見出し，これがプラスミドベクターのコピー数が一定であることに由来することを明らかにしている。

以上のように本論文は *Saccharomyces cerevisiae* における高次倍数体育種法を確立すると共に，醸造株より遺伝子工学宿主株におよぶ酵母育種に重要な知見を与えるものであり，その成果は学術的にも工業的にも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。