

Title	Saccharomyces cerevisiaeホスファターゼ生産調節系における信号伝達と遺伝子発現制御機構
Author(s)	吉田, 和哉
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/36441">http://hdl.handle.net/11094/36441</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名・(本籍)	よし	だ	かず	や
	吉	田	和	哉
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	8650	号	
学位授与の日付	平成元年	3月	24日	
学位授与の要件	工学研究科醗酵工学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ホスファターゼ 生産調節系における信号伝達と遺伝子発現制御機構			
論文審査委員	(主査) 教授 大嶋 泰治			
	教授 山田 靖宙	教授 高野 光男	教授 岡田 弘輔	
	教授 菅 健一	教授 吉田 敏臣	教授 二井 将光	

## 論文内容の要旨

本論文は、酵母遺伝子の発現制御機構の理解を深め、遺伝子工学育種株による生産を効率的に行うことを目的として行った研究をとりまとめたものであり、*Saccharomyces cerevisiae* の抑制性酸性ホスファターゼ (rAPase) 遺伝子 *PHO5* の発現制御系を対象としている。*PHO5* 遺伝子の発現は、培地中の無機リン酸 (Pi) によって転写レベルで抑制されている。これまでの遺伝学的な解析から、*PHO5* の発現制御系では、調節遺伝子 *PHO4* と *PHO2* の産物が正因子として働き、調節遺伝子 *PHO80* と *PHO85* 産物が負因子として正因子の活性を調節し、調節遺伝子 *PHO81* の産物が仲介因子として培地中の Pi を認識して負因子の活性を調節すると考えられている。本論文は、この遺伝学的モデルに対し、さらに分子生物学的な解明を進めたものであり、5章から構成されている。

第1章は緒論であり、ホスファターゼ生産制御系に関するこれまでの知見を要約し、本研究の発酵生産および生物学における意義と本論文の構成について述べている。

第2章では、*PHO2* 遺伝子の発現様式について述べている。クローニングされた *PHO2* 遺伝子DNAを用いた解析から、*PHO2* 遺伝子は培地中の Pi の濃度や他のホスファターゼ生産調節遺伝子の影響を受けず構成的に転写されているが、翻訳段階を含めた発現は培地中の Pi と *PHO2* タンパク質自身の活性によって抑制されていることを示している。

第3章では、*PHO81* 遺伝子の発現様式について述べている。クローニングされた *PHO81* 遺伝子DNAをプローブとして調べた結果、*PHO81* 遺伝子の転写は培地中の Pi によって抑制されており、この調節が *PHO81* 自身を含むホスファターゼ生産制御系を通して行われることから、ホスファターゼ生産調節系が閉鎖回路をなすことを示している。また、酵素生産が構成性となる *PHO81* の突然変異がその

5' 上流制御領域に生じた変異であることを明らかにしている。

第4章では、各調節タンパクの機能と相互関係を明らかにするため、各調節遺伝子の供与量を増加させることの rAPase 活性におよぼす効果を調べている。調節タンパク相互作用について、PHO4 タンパクと PHO80 タンパク間には厳密な対応効果を認めているが、PHO80 タンパクと PHO81 タンパク間には直接的対応を認めず、これらの結果を総合して、PHO81 タンパクを P<sub>i</sub> あるいはその誘導体の代謝酵素とするモデルを提案している。また、PHO2 タンパクは P<sub>i</sub> 濃度に関する信号の伝達には直接関係しないこと、PHO5 遺伝子のコピー数増加が直接 rAPase 生産性向上をもたらすものでなく、制限因子は PHO4 タンパクの供与量であることを示している。

第5章では、本研究で得られた成果を総括し要約している。

### 論文の審査結果の要旨

微生物細胞に備えられた代謝制御機構を改変し、特異的にある物質を蓄積させることは発酵生産における生産原理の1つである。また、遺伝子工学による菌株育種において、遺伝子発現制御機構についての適切な理解は必須である。本論文はこのような問題について、酵母における基礎的知見を得ることを目的に、ホスファターゼ生産制御系を対象に行った研究をまとめたもので、得られた成果は次のように要約できる。

- (1) 培地中の P<sub>i</sub> 濃度についての信号をホスファターゼ構造遺伝子に伝達し、その発現調節を行う制御系は、PHO4、PHO80 および PHO81 遺伝子にコードされるタンパク質より構成されている。PHO4 タンパク (正因子) は酵素構造遺伝子の発現を促し、PHO80 タンパク (負因子) は直接正因子タンパクに接触し、正因子機能を負に調節する。負因子タンパクの活性は代謝因子である P<sub>i</sub> あるいはその誘導体により活性化され、代謝因子の細胞内濃度は PHO81 遺伝子によりコードされる酵素により影響を受けるとするモデルを提案している。さらに、PHO81 遺伝子は PHO81 タンパクを含むホスファターゼ制御系の発現制御を受けることから、本制御系は閉鎖回路をなすことを示している。
- (2) ホスファターゼ生産が構成性となる PHO81<sup>c</sup> 突然変異は、PHO81 遺伝子の転写が構成性となっており、これは PHO81 遺伝子の 5' 上流非翻訳領域に生じた突然変異の結果であることを示している。
- (3) ホスファターゼ構造遺伝子 PHO5 の発現に必要なもう1つの正の調節遺伝子 PHO2 の発現は、P<sub>i</sub> と自身の生産するタンパク質による自律的制御を、恐らくその翻訳段階で、受けることを示唆し、さらに、本タンパク質が P<sub>i</sub> 信号の伝達には無関係であることを示している。
- (4) 酵母宿主において、タンパク質の生産性向上を図るには、構造遺伝子のコピー数を増加するよりも、正因子タンパクを増加することが、より効果的であることを明らかにしている。

以上のように、本論文は酵母遺伝子の発現制御に働く信号伝達系について、重要な基礎的知見を与え、酵母の育種のみならず、基礎生物学に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。