



Title	Splitting and fusing chromosomes in Saccharomyces cerevisiae
Author(s)	Donny, Widiyanto
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40231
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	ドニ - Donny	ワイディアント Widianto
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)	
学 位 記 番 号	第 1 3 1 1 0 号	
学 位 授 与 年 月 日	平成 9 年 3 月 25 日	
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科醗酵工学専攻	
学 位 論 文 名	Splitting and fusing chromosomes in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> における染色体の分断と融合)	
論 文 審 査 委 員	(主査)	
	教 授 室岡 義勝	
	教 授 今中 忠行	教 授 関 達治
	教 授 塩谷 捨明	教 授 菅 健一
	教 授 吉田 敏臣	教 授 小林 昭雄
	教 授 山田 靖宙	教 授 金谷 茂則
		教 授 二井 将光

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の一倍体細胞において、染色体を任意の位置で分断、あるいは融合する新しい染色体工学技術の開発についての一連の研究結果をまとめたものであり、以下の 5 章から構成されている。

第 1 章では、本研究の背景を述べるとともに、本論文の目的を、遺伝子を微細に操作する遺伝子工学と、丸ごとの細胞を操作の対象とする細胞工学の中間を埋める重要な育種技術の開発と位置づけている。

第 2 章では、出芽酵母の一倍体細胞における染色体分断技術を開発するため、テトラヒメナのリボゾーム DNA 末端が出芽酵母細胞内でテロメアとして機能し、またこれを逆向き反復配列として染色体に組み込めば効率よく解離が起こり染色体が分断されることを利用した新しい染色体分断ベクターを構築している。さらに構築した染色体分断ベクターを利用して、任意の染色体を任意の位置で 2 つに効率良く分断できることを示している。また、染色体が分断された結果、通常の一倍体細胞より染色体数が 1 本多い 17 本の染色体を持つようになった株の中には、増殖が増進されるものがあることも見いだしている。

第 3 章では、染色体分断技術をさらに発展させるため、第 2 章で開発した染色体分断ベクターに加え、種々の選択符号を持つ計 5 種類の染色体分断ベクターを構築し、それらのベクターを利用して、17 本から 21 本の様々な染色体数を持つ出芽酵母一倍体細胞を創製している。このことにより、出芽酵母の一倍体細胞は、少なくとも 21 本までの染色体を安定に維持できることを示し、動・植物など異種ゲノムを持つ多くの人工染色体が導入できる可能性を示している。

第 4 章では、醤油酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* 由来のプラスミド、pSR 1 の部位特異的組換え系と制御可能なセントロメアを利用する事により、*Saccharomyces cerevisiae* の染色体を融合する染色体工学技術を開発し、15 本の染色体を持つ出芽酵母一倍体細胞を創製している。また、融合染色体の体細胞分裂における安定性を解析し、融合染色体が融合前の染色体と同様に安定であることを明らかにしている。

第 5 章では、以上の結果を総括し、今後の課題、および染色体の分断や融合技術の産業酵母育種や、純粋生物学における興味深い問題の解決に寄与し得る可能性について述べている。

論文審査の結果の要旨

酵母細胞の育種技術には、性的交雑、細胞融合、細胞質混合のように遺伝情報を細胞レベルで大幅に改変する「細胞工学的育種技術」や、特定の遺伝子を微細に改変する「遺伝子工学的育種技術」が開発されている。しかし、特定の染色体全体や染色体の特定の領域を操作するいわゆる「染色体工学的育種技術」については、ほとんど研究が行われていない。本研究は、こうした問題を解決しようとしたものであり、得られた主な成果を要約すると以下の通りである。

- (1) これまでの種々の生物を材料とした研究から、染色体を人為的に操作するために必要と考えられる知見を抽出整理し、出芽酵母の一倍体細胞において染色体を任意の位置で分断、あるいは融合するための方法論を提案している。
- (2) 提案したアイデアに基づいて、染色体の分断技術を開発するため、テトラヒメナのリボゾームDNA 末端をテロメアとして利用した染色体分断ベクターを構築している。さらに構築した染色体分断ベクターを用いて、実際に任意の染色体が任意の位置で効率良く2つに分断できることを実証している。
- (3) 染色体分断技術をさらに発展させるため、種々の選択符号を持つ5種類の染色体分断ベクターを構築し、それらのベクターを利用して、17本から21本の様々な染色体数を持つ出芽酵母一倍体細胞を創製している。このことにより、特定の染色体を複数に分断できる基盤を確立し、酵母染色体だけでなく、動・植物など異種ゲノム由来の染色体を持つ酵母人工染色体の特定領域の置換や他細胞への移植などを行える可能性を示している。
- (4) 染色体の融合技術を開発するため、醤油酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* 由来のプラスミド、pSR 1 の部位特異的組換え系と制御可能なセントロメアを利用する方法論を提案し、実際にこの方法によって、*Saccharomyces cerevisiae* の2つの染色体を融合させることができることを示している。また、融合染色体が体細胞分裂において安定であることを示し、動・植物などの染色体を持つ酵母人工染色体と本来の酵母の染色体との融合により、不安定な人工染色体を安定に保持できる可能性を示している。

以上のように、本論文は、酵母細胞において、微生物、動・植物染色体を操作する新しい次元の染色体工学技術を確立したものであり、*この技術によって、染色体の特定領域の除去や置換を利用した新しい産業酵母育種技術の開発、多遺伝子性有用形質の遺伝子支配の解析、染色体の核内での動態解析、染色体の分断、数や長さの遺伝子発現や細胞生理に及ぼす影響の解析、酵母人工染色体にクローン化された高等動・植物由来の染色体の操作、進化工学との組合わせによる最小ゲノム生物の創製など、多くの応用が可能になると考えられる。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。