OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	酵母プラスミドpSR1の部位特異的組換えの染色体工学への応用
Author(s)	松崎, 浩明
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/479
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【7】

氏名・（本籍）	松崎（まつざき） 浩明（ひろあき）
学位の種類	工学博士
学位記番号	第8646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	**酵母プラスミドpSR1の部位特異的組換えの染色体工学への応用**
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，生物の新しい育種法である染色体工学の確立を目的として，味噌，醤油醸造酵母*Zygosaccharomyces rouxii* 由来プラスミドｐＳＲ１の部位特異的組換え機構を解明し，この機構を利用して，酒類の醸造あるいはパン製造に使用される酵母，*Saccharomyces cerevisiae* の染色体改変技術の開発を行ったものである。

第１章は緒論であり，本論文の研究を始めるに至った背景，研究の意義ならびに本論文の概要について述べている。

第２章では，ｐＳＲ１プラスミドの分子内組換え機構について明らかにしている。ｐＳＲ1 プラスミドは環状二重鎖ＤＮＡで，分子内に一対の逆向き反復配列をもち，この部分を介して分子内組換えを行う。まず，逆向き反復配列に変異をもつｐＳＲ１プラスミドの組換えと変異部位の挙動を*S. cerevisiae* 細胞内で調べ，組換え部位を５８塩基対（ｂｐ）配列内に限定している。また，変異部位は組換えに伴う遺伝子変換により，両反復配列が完全に同一配列になることを指摘している。次に，この分子内組換えが大腸菌細胞内でも*R*遺伝子を発現させることにより起ることを示し，分子内組換えはＲタンパクのみの触媒作用で行われることを示唆している。さらに，部分精製したＲタンパクが，組換え部位内に存在する 14 bp の逆向き反復配列とそれに続く４個の同じ 14 bpの反復配列に結合することを示している。以上の結果にもとづき，分子内組換え機構の分子モデルを提案している。

第３章では，第２章の結果から示唆されたｐＳＲ１プラスミドの部位特異的組換えを利用した染色体改変の可能性について検討している。*S. cerevisiae* 染色体上の２か所に組換え部位ＤＮＡを組込み，ガラクトース代謝遺伝子プロモーター部の下流に*R* 遺伝子を連結したプラスミドを使用して，Ｒタンパクを

生産させると，染色体上に欠失あるいは逆位，非相同染色体間の交叉などの染色体異常を，高頻度で誘発できることを明らかにしている。

第4章では，第2章と第3章の研究結果について総合的な考察を行うとともに，研究結果を要約している。

論文の審査結果の要旨

現在の遺伝子工学技術では，操作可能なＤＮＡのサイズが小さく，育種形質が不安定であるなどの欠点があり，代謝系を構成する多数の遺伝子を担う巨大ＤＮＡを操作することは不可能である。そこで，染色体レベルでの遺伝子操作を可能とする染色体操作技術の開発が望まれている。本論文の研究は，酵母プラスミドに備わっている分子内組換えの機構を解明し，この組換え系を染色体操作に応用することを目的としている。その成果を要約すれば次の通りである。

(1) *Zygosaccharomyces rouxii* 由来プラスミドは，宿主細胞の増殖中に，一対の逆向き反復配列を介して分子内組換えを行う。この組換え部位の塩基配列を58 bp内に限定し，この組換えがｐＳＲ1プラスミド自身にコードされるＲタンパクに触媒される，部位特異的組換えであることを明らかにしている。

(2) 逆向き反復配列の一方に生じた変異配列が，分子内組換えに伴って起る遺伝子変換により，互いに全く相同な配列に戻ることを発見している。

(3) これらの現象を考慮して，プラスミドの分子内組換え機構として，特異な部位特異的組換えモデルを提案している。

(4) ｐＳＲ1プラスミドの部位特異的組換え系を利用した異種酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の染色体の改変方法を考案し，染色体上に大きな欠失あるいは逆位を導入し，非相同染色体間の交叉を高頻度で誘発することに成功している。

以上のように，本論文は，プラスミドの組換え機構を解明し，この組換え系を利用した染色体改変技術の開発により，酵母は勿論，その他多くの生物種に対して，新しい育種技術を提供するものであり，基礎生物学の進展に寄与するところも大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。