

【 17 】

氏名	瀬野悍二
	せのたけし
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第53号
学位授与の日付	昭和37年6月19日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科植物学専攻
学位論文題目	Genetical Studies on Copper Resistance of Yeast (酵母の銅耐性の遺伝学的研究)
論文調査委員	(主査) 教授 芦田譲治 教授 新家浪雄 教授 北村四郎 教授 中村健児

論文内容の要旨

正常な酵母株を含銅培地に培養して得られた耐性変異株の銅耐性は、無銅培地に植えついても容易に消失しない。主論文は、この耐性の遺伝について調べたものである。

まず接合型を異にし、ほぼ同程度に銅感性である二つの半数体株を選び、その一方を含銅培地に培養することによって銅耐性とし、他方の株と交配した。この交雑2倍体株は耐性親と同程度の耐性を示し、その4分子解析では、銅耐性、接合型、ガラクトース発酵能、および生長型が、各独立に2:2に分離し、分離された株の耐性および感性の程度は、交雑に用いた両親株のそれに等しかった。

感性2倍体株を含銅液体培地で培養し、定常期に入る少し前の4日目、および定常期に入り終っている6日目の培養中から、レプリカ法によって銅耐性クローンを多数分離したところ、高い耐性のもの(R型)と低い耐性のもの(R')型が得られたが、4日目の培養に比して、6日目の培養にはR型が多かった。これらの株の4分子解析はつねに、R'型株ではR'型耐性と感性、R型株ではR型耐性と感性の2:2分離を示し、どちらの2倍体から分離された感性株も、銅に対する反応に差がなかった。この結果は、R型耐性とR'型耐性がいずれも単一遺伝子に規定されること、また感性2倍体を銅培養した場合には、耐性遺伝子をヘテロにもつ耐性細胞が培養中に増加することを示す。

R型耐性の遺伝子をR、R'型耐性のそれをR'とし、これらの対立遺伝子を簡単のためrで表わせば、母株はrr、上記の銅培養から分離されたR'型およびR型耐性株はそれぞれR'rおよびRrをもつものと表現できる。分離した耐性半数体を利用して、RR, RR', R'R'を作ったが、前2者はRrと、R'R'はR'rと、ほぼ等しい銅耐性を示した。そしてRR'の4分子解析はつねにR:R'の2:2分離を与えたから、RとR'の遺伝子座は、互いに非常に接近しているか、同位置にあるものと考えられる。

感性2倍体(rr)の銅培養において、R'型耐性細胞(R'r)が初めに比較的多く、後にR型耐性細胞(Rr)が増すことの原因をみるため、R'rなる遺伝子型の2倍体を前記の場合と同じ銅濃度の培地で培養し、生じたR型細胞のクローンをレプリカ法で27個分離し、その遺伝子型を調べたところ、Rrが20個、RR'が

4個、 $R'R'$ が1個あり、残りの2個では $R:r$ が3:1であった。すなわち、 R' が R に変わった場合が特に多かったわけである。もし R' と R が互いに別の遺伝子座にありとすれば、感性から R への突然変異が、 R' をもつ染色体上においてはその相同染色体上よりも高頻度にとこると考えねばならない。もし複対立遺伝子でありとすれば、 R' から R への突然変異率が、 r から R への突然変異率よりも高いことを意味する。この推論には、 Rr と RR' との間に銅培地中における生長競争がないという条件が含まれるが、ガラクトース発酵能を異にする Rr と RR' のいろいろの組み合わせの混合培養をおこなって、この仮定の誤っていないことを確かめた。

銅培養によって得た耐性株は、一般に硫化水素を発生する能力が高く、銅培養の定常期において褐色を呈する。硫化水素は銅を無毒化するであろうから、硫化水素発生能と銅耐性との間の遺伝的関係は興味がある。いろいろの株を銅培養して得た銅耐性株の間には硫化水素発生能の高さに差があるが、これは母株によって定まっており、硫化水素発生能の比較的低いことが、高いことに対して優性であり、硫化水素発生能と銅耐性との間にはかなりの連鎖関係はあるが、遺伝子座が別であることがわかった。銅培地上で着色度の高い株は、硫化水素発生能が高く、細胞の銅および無機硫黄含量が高いが、これらはその株の銅耐性程度とかならずしも並行しなかった。これは硫化水素発生が、銅耐性株の生長後期においてようやく盛んになるものであり、生長の盛んな時期における銅耐性の主要な機作が他にあると考えられることから理解される。

参考論文は、酵母の銅耐性の主要な機作が硫化水素発生以外にあること、および銅耐性を支配する遺伝子座が単一であることから、耐性機作が比較的単純なものであらうと考え、耐性細胞のほうが感性細胞より銅透過性が低いかどうかを調べたものである。これについては、分析結果の解釈上いろいろの難点があるので、細胞に銅を与えるときの条件や、分析に先だつ細胞処理の条件などを検討して実験したのであるが、耐性細胞のほうが銅透過性が低いという傾向はみられなかった。

論文審査の結果の要旨

主論文は、酵母菌が銅耐性化する場合の遺伝的变化を調べたものであって、これにより、高度の耐性も中程度の耐性も、ともに突然変異した単一遺伝子によって支配され、両者は複対立遺伝子の関係にあると思われること、中程度の耐性から強耐性への突然変異率は、感性から中程度耐性あるいは強耐性への突然変異率より高いこと、また銅イオンを解毒する効果のある硫化水素発生について、その活性度を支配する遺伝子座が銅耐性の遺伝子座からややはなれて存在することなどを中心として、いろいろの興味ある事実を明らかにしたものである。これは、微生物の耐性化における遺伝的变化を、交配実験の可能な酵母菌を用いて研究したものであって、生物学上意義のある貢献といえることができる。

また参考論文は著者の思慮深い研究態度を十分に示している。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。