

氏名	須田 紘太
	すだ こう た
学位の種類	理学博士
学位記番号	論理博第469号
学位授与の日付	昭和49年5月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	<b>Somatic segregation, recombination and elimination of mitochondrial genes in <i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> (酵母のミトコンドリア遺伝子の体細胞分離, 組換えおよび消失)

論文調査委員 (主査) 授教 皆川 貞一 授教 竹内 郁夫 教授 小関 治男

### 論文内容の要旨

コウボ *Saccharomyces cerevisiae* は嫌気的条件下でも好気的条件下でも生育できる生物であるが、好気的条件下でのみミトコンドリアの形成が認められ、ミトコンドリア研究に一つの好材料と考えられてきた。またミトコンドリアの形成には核に存在する染色体遺伝子とミトコンドリア遺伝子と呼ばれる非染色体遺伝子の二種類の遺伝子が関与していることが明らかにされている。本論文はミトコンドリア遺伝子の突然変異株であるオリゴマイシン、エリスロマイシン、クロランフェニコールの三薬剤に対する耐性株を用いてミトコンドリア遺伝子の遺伝学的解析を行ったものである。

申請者はまず薬剤耐性株と感性株とを交配し、生じた接合子の生長にともなう遺伝子が分離する様相をしらべた。その結果接合子の大部分はこれら遺伝子をヘテロに含んでいるが、細胞が分裂するにつれて遺伝子は分離し、遺伝子をホモに持つ細胞が増加する。三種の薬剤耐性遺伝子ではこの分離の速さに相違がみられ、クロランフェニコール、エリスロマイシン、オリゴマイシン耐性遺伝子の順に速かった。

ついで申請者は三因子交配を行って接合子孫中の各耐性遺伝子の分布をしらべた。その結果、接合子孫中に回収される $\alpha$ または $a$ 親から由来する遺伝子頻度の0.5からの変異の大きさが、オリゴマイシン、エリスロマイシン、クロランフェニコール耐性遺伝子の順であること、また平均組換え頻度が、オリゴマイシン—エリスロマイシン耐性遺伝子間で0.19、エリスロマイシン—クロランフェニコール耐性遺伝子間で0.10、クロランフェニコール—オリゴマイシン耐性遺伝子間で0.19であることを見出した。

さらにこれら三種の耐性遺伝子をもつ半数体株にエチジウムブロマイド処理を行い、誘起される呼吸欠失と耐性遺伝子の欠失頻度をしらべている。これらの頻度は何れも薬物処理の量に対応して増加するが、呼吸欠失をおこさないものには耐性の欠失はみられない。クロランフェニコール、エリスロマイシン、オリゴマイシン耐性遺伝子の順に欠失がおこり、エリスロマイシン耐性遺伝子はクロランフェニコール耐性遺伝子と高頻度で残存または欠失するが、オリゴマイシン耐性遺伝子はこれらの遺伝子とは容易に分離されることを明らかにした。

上にのべた結果から、申請者はこれらの耐性遺伝子はミトコンドリア DNA 上にオリゴマイシン、エリスロマイシン、クロランフェニコール耐性遺伝子の順に配列しており、後の二者が密接に関連している、また親から子孫に伝えられるミトコンドリアゲノムの数は細胞中のミトコンドリアやミトコンドリア DNA の数よりもはるかに少ないと論じている。

参考論文 1 は、呼吸系形成に関係する染色体遺伝子支配の温度感受性変異株の遺伝学的、生理学的研究であり、参考論文 2 は、薬剤耐性株の 2 因子交配の結果から、オリゴマイシン、エリスロマイシン耐性因子が、連関の関係にあることを示したものであるなど、主論文の研究の前段階をなすものである。

### 論文審査の結果の要旨

細菌を材料とした遺伝学あるいは分子遺伝学の飛躍的発達により細菌の非染色体遺伝子に関する知識は増大したが、真核性生物の非染色体遺伝子に関しては未だ殆んど知られていないといっても過言ではない。コウボの非染色体遺伝子は古く 1950 年代の初めに Ephrussi 等によって発見され、その染色体遺伝子と異った行動とこれを欠くとミトコンドリアが形成できなくなるという性質から大きな注目をうけ、遺伝学の 1 つの重要な対象とされた。しかし呼吸欠損株は全て同一表現型しか示されないために、これに加えて実験操作が容易でないためにその発展は永らく停滞を余儀なくされた。1968 年 Linnan らがコウボのミトコンドリアの形成と機能を阻害する薬剤に対する耐性が細胞質遺伝性であることを発見したが、これは真核性生物の非染色体遺伝子およびミトコンドリアを理解する上にさらに進んだ手段を投じたものといえよう。申請者は非染色体遺伝子としてオリゴマイシン、エリスロマイシン、クロランフェニコールに対する耐性遺伝子を取りあげ、体細胞分裂時における分離、有性生殖時の組換え、さらにエチジウムブロマイドによる欠損の誘導をしらべ、遺伝学的にその性質を明らかにしている。

まず申請者は薬剤耐性株と感性株を交配してつくられた接合子は両親の遺伝的性質をともにそなえたヘテロの遺伝子構成を持つことを明らかにしているが、それが分裂を開始すると遺伝子の種類によって特徴的な速さで分離すること、しかも遺伝子によってはその速さが数回の分裂ではほぼ完了すること、を示している。この観察はまたエチジウムブロマイドの実験と同様にミトコンドリアゲノムが 1 つの細胞にごく少数しか含まれていないことを明確に示している。申請者はこのことに関して、組換え型の出現は分離頻度と組換え頻度の関数としてきめられるとのべているが、この指摘は重要である。

申請者はついで三因子交配による組換え頻度と  $\alpha$  親の遺伝子が子孫中に回収される頻度から考察してこれらの遺伝子は、オリゴマイシン、エリスロマイシン、クロランフェニコール耐性遺伝子の順に配列しており、エリスロマイシン、クロランフェニコール耐性遺伝子は強い連関をもつことを証明した。

さらに申請者は半数体細胞にエチジウムブロマイドを作用させてこれらの遺伝子の欠失誘導を行い、遺伝子はクロランフェニコール、エリスロマイシン、オリゴマイシン耐性の順に欠失し、交配実験の結果との一致を見出した。エチジウムブロマイドはミトコンドリア DNA に作用し、その分子の大きさを小さくするとか分子の消失をおこすことが知られている。ミトコンドリア DNA がミトコンドリア遺伝子を含んでいるという考え方を支持するものとして興味深いものである。

以上を要約すると、申請論文はコウボのミトコンドリア遺伝子のいくつかの重要な性質を明らかにする

と共に、ようやく進展しつつある今後のこの分野の研究に重要な基礎を与えるものであると考えられる。  
また参考論文は何れもコウボのミトコンドリア遺伝子に関する優れたものである。  
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。