

**2A09-5 IME1 遺伝子の発現制御に関する正因子の同定**

○星 直美, 岩野 君夫, 中沢 伸重  
(秋田県大院・生物資源科学)

【目的】出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において、*IME1* 遺伝子は胞子形成開始に必須であり *Ime1* タンパク質はその下流の *IME2* 遺伝子を含む胞子形成特異的遺伝子群の転写を誘導する。*IME1* 遺伝子のプロモーター部は全長が約 3kbp と長く、その転写制御の全容は明らかではないことから、今回、*IME1* 遺伝子の-1906~-1542の領域 (*IME1<sub>A</sub>*) について解析を行った。【方法および結果】*IME1<sub>A</sub>* に *lacZ* 遺伝子の構造部を連結した *IME1A-CYC1-lacZ* レポーター遺伝子を持たせた株に、多コピー型染色体 DNA ライブラリーを導入し、レポーター遺伝子が発現して X-gal 培地上でコロニーが青色を呈する株を取得した。この株から回収したライブラリーの DNA 断片には *RPII* 遺伝子が含まれていた。*RPII* 遺伝子は Ras/cAMP 経路の抑制因子として、または転写活性化因子として報告されているが、胞子形成における機能は明らかにされていない。そこで *IME1* 遺伝子の転写に対する *Rpi1* タンパク質の影響をノーザン解析で調べたところ、*IME1* 遺伝子の発現に *Rpi1* タンパク質が正に関与することが分かった。また、*Rpi1*-GFP 融合タンパク質を用いて胞子形成条件下における *Rpi1* タンパク質の局在を観察し、*Rpi1* タンパク質が核に局在することが分かった。

**Identification of a positive regulator of the *IME1* transcription in *Saccharomyces cerevisiae*.**

○Naomi HOSHI, Kimio IWANO, Nobushige NAKAZAWA  
(Akita Pref. Univ., Grad Sch. Biores. Sci.)

**Key words** *IME1*, *RPII*, *Saccharomyces cerevisiae*

**2A10-2 亜硫酸耐性遺伝子 *SSU1-R* のプロモーター解析**

○湯浅 徳行, 中川 洋史, 早川 正幸, 飯村 穰  
(山梨大院・医工総合・生命)

【目的】出芽酵母では、亜硫酸排出のトランスポーター遺伝子として *SSU1*, *SSU1-R* が知られている。*SSU1* については転写活性化因子として *FZF1* などが明らかであるが、より強い亜硫酸耐性因子である *SSU1-R* の発現制御機構は明らかではない。*SSU1-R* プロモーターには特徴的な 76 bp の四重繰り返し配列 (-454~-212) が存在する。すでにこの繰り返し配列がプロモーター活性に重要であることをプロモーター領域のディリーション解析から明かにしており、今回はさらに詳細な検討を行った。【方法及び結果】*SSU1-R* の開始コドンより 929 bp 上流までをプロモーター領域としてとり、レポーター遺伝子として *LacZ* を連結したプラスミド pLGR929 を作製し、発現を定量化できるようにした。このレポータープラスミドを用いて、プロモーターの活性化条件を検討したところ、微好気条件 (8-9% O<sub>2</sub>) において活性化することがわかった。このため酸素濃度に関わる制御配列を検索したところ四重繰り返し配列に LORE (Low Oxygen Response Element) とみられる配列が存在した。現在、*CYC1* 遺伝子の TATA 配列と *LacZ* 遺伝子から成るレポータープラスミド (pLG670-Z) の上流に四重繰り返し配列を挿入し、より詳細な研究を行っている。

**Analysis of *SSU1-R* gene promoter in *Saccharomyces cerevisiae***

○Noriyuki YUASA, Youji NAKAGAWA, Masayuki HAYAKAWA,  
Yuzuru IIMURA  
(Dept. Biotech., Grad. Sch. Med. Eng., Univ. Yamanashi)

**Key words** *Saccharomyces cerevisiae*, *SSU1-R*, *SSU1*, sulfite resistance

**2A10-1 醸造酵母の胞子非形成性メカニズムの解析**

○阿部 紀長<sup>1</sup>, 小鹿 泰弘<sup>2</sup>, 岩野 君夫<sup>1</sup>, 中沢 伸重<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>秋田県大院・生物資源科学, <sup>2</sup>秋田県大・生物資源科学)

【目的】醸造酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は、ほとんど胞子形成能を示さない。もし醸造酵母に胞子形成能を付与することができれば、接合能を有する胞子クローンを得ることができ、性的交雑によって雑種二倍体を造成することが可能となる。そこで胞子形成能を回復させるために、清酒酵母協会7号酵母の胞子非形成性メカニズムの解析を試みた。【方法及び結果】協会7号酵母で、*Schizosaccharomyces pombe* の *adh* プロモーターを利用し、胞子形成開始に関与する *IME1* 遺伝子を高発現させたが、その胞子形成率は1%程度しか回復しなかった。また、協会7号酵母からクローン化した *IME1* 遺伝子を、*ime1 delta/ime1 delta* 株に導入することで胞子形成が見られた。*Cln3p/Cdc28p* キナーゼが *Ime1p* の核移行を負に制御することから、*CLN3* 遺伝子を破壊した協会7号酵母を造成し、その株の胞子形成率を調べたところ、13.3%であった。*IME1* 遺伝子のプロモーター部 (-2315~-6) と *lacZ* 遺伝子の構造部を連結したレポーター遺伝子とノーザン解析から、協会7号酵母と比べ、*cln3 delta* 株の *IME1* 遺伝子の転写量は増加していた。次に、協会7号酵母よりの *CLN3* 遺伝子を *cln3 delta/cln3 delta* 株に導入したところ、正常な胞子形成が観察された。以上の結果より、協会7号酵母では胞子条件下で *IME1* 遺伝子の転写誘導と *Ime1p* の局在が正常に制御されていないと推察される。

**analysis of the sporulation defect in industrial yeast**

○Kimio ABE<sup>1</sup>, Yasuhiro KOSHIKA<sup>2</sup>, Kimio IWANO<sup>1</sup>,  
Nobushige NAKAZAWA<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Akita Pref. Univ., Grad. Sch. Biores. Sci., <sup>2</sup>Akita Pref. Univ., Fac. Biores. Sci.)

**Key words** sporulation defect, *IME1*, *CLN3*

**2A10-3 出芽酵母の高糖濃度耐性機構における *SEDI* 遺伝子の役割**

○千葉 寛志, 中川 洋史, 早川 正幸, 飯村 穰  
(山梨大院・医工総合・生命)

【目的】出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は高糖濃度環境下において、浸透圧等のストレスを受け生育が抑制される。酵母は浸透圧ストレスに対し、HOG経路を活性化し、グリセロール合成遺伝子をはじめ、多数の遺伝子の発現を変化させることにより適応することが知られている。しかし、高糖濃度耐性機構については不明な点が多い。我々は、前大会において細胞壁マンナンタンパク質 *Sed1p* の高発現株が高糖濃度耐性となることを報告した。そこで、本研究では高糖濃度耐性機構における *SEDI* 遺伝子の役割を解明することを目的とした。【方法及び結果】*SEDI* 遺伝子の高糖濃度耐性における役割を調べるために、*sed1* 株を構築し、対数増殖期及び定常期の細胞を用いて50% (w/v) のグルコースを含む高糖濃度培地においてスポット試験を行った。その結果、定常期細胞においてのみ顕著に生育の低下が見られた。従って、*SEDI* は定常期における高糖濃度耐性に必要であることが明らかになった。*sed1* 株は定常期において細胞壁溶解酵素 *Zymolyase* に感受性となることが知られている。そこで、*SEDI* の高発現による高糖濃度耐性と細胞壁構造との関わりを調べるために *SEDI* 高発現株の細胞表面を走査型電子顕微鏡により観察した結果、対照株に比べて顕著な違いが観察された。これらの結果から、*Sed1p* による細胞壁の構造変化が高糖濃度耐性の要因であることが示唆された。

**The role of *Saccharomyces cerevisiae* *SEDI* gene in high sugar tolerance**

○Hiroshi CHIBA, Youji NAKAGAWA, Masayuki HAYAKAWA,  
Yuzuru IIMURA  
(Dept. Biotech., Grad. Sch. Med. Eng., Univ. Yamanashi)

**Key words** *Saccharomyces cerevisiae*, cell wall mannoprotein, *SEDI*, high sugar tolerance