

336 酵母におけるガラクトース代謝系遺伝子群の発現調節

(ヤマサ醤油株) ○五十嵐 誠, 大谷 裕 (慶大・医学部) 深沢俊夫, 末 泰寿

サッカロマイセス酵母においてガラクトースは、GAL2のコードするガラクトース・パーミラーゼで細胞内へ取り込まれ、GAL1-GAL10-GAL7のGAL系遺伝子群のコードする各代謝酵素によってUDP-グルコースに変換され、以後グルコースと同様な経路で代謝される。これらGAL系遺伝子群、GAL2、及び β -ガラクトシダーゼの構造遺伝子MEL1の発現は転写レベルで調節されており、ガラクトースが存在しない非誘導条件下では全くそのmRNAは検出されず、培地にガラクトースを加える事により誘導される。

このガラクトースによる転写の誘導には、Gal4蛋白の存在が必須である。すなわち、GAL4遺伝子を欠損させると、たとえ培地にガラクトースを加えても、ガラクトース代謝系酵素のmRNAが検出されない事からGal4蛋白が転写を直接に促進する正の因子である。

一方、ガラクトースが存在しない条件でGAL4の作用を阻害し、ガラクトース代謝系酵素の発現を抑制する負の因子としてGal80蛋白が存在し、したがって、GAL80遺伝子を欠損させると各代謝系遺伝子は構成的に転写される。

GAL4遺伝子は構成的に発現されているがGAL80遺伝子の転写はガラクトースの存在により2~5倍上昇する。この現象をより簡便に解析するため、GAL80-lacZ融合遺伝子を作成し、マルチコピーベクターであるYEp24上にクローニングした。このプラスミドを野生株及び各種制御遺伝子の変異株に導入し、各条件下で β -ガラクトシダーゼ活性を測定した。まず、野生株では、非誘導条件下では活性は検出できなかったが、誘導条件下では活性は誘導されていた。また、構成変異株であるGAL4とgal80(大文字は優性変異、小文字は劣性変異を意味する。)では、GAL80-lacZ遺伝子は構成的に発現していたのに対し非生産変異株であるgal4とGAL80⁺では、どちらの条件でも活性は検出されなかった。以上の事から、GAL80遺伝子の転写はGAL4によって正の、GAL80自身によって負の調節を受けている事が示された。

Gal4蛋白はガラクトース代謝系遺伝子の5'上流に位置している制御領域に結合することにより、転写誘導がおこると考えられていたが、その部位を同定する試みが行なわれた。その試みは2通りの方法で行なわれ、一つはGal4蛋白が結合する部位を直接検討する方法、もう一つはそのGAL系遺伝子の転写誘導に必要な領域を探す方法がとられた。同定された部位はいずれも同じで、この部位はUAS(Upstream Activating Sequence; 上流活性化配列)と呼ばれている。UASは20塩基前後の長さで、Tを中心に点対称の形をしており、各遺伝子間で非常に良く保存されている。UASはGAL80にも見出された事から、GAL1-GAL10-GAL7などと同様の転写制御を受けている事が示唆され、前に述べた仮説を支持した。

しかしながら、UASを保持する各遺伝子の転写調節は必ずしも一様ではない。例えば、GAL80やMEL1では非誘導条件下で低レベルながら発現しているのに対し、GAL1-GAL10-GAL7及びGAL2では検出されない。また、発現のレベルもGAL80と他の遺伝子とはかなり異なっている。

これらの違いが、果してUASによるものかどうかを探るため、UASの性質について若干の検討を行った。すなわち、天然のものとは配列の異なるUAS2種類を化学合成し、GAL7のTATAボックス上流1~100塩基の範囲内の3ヶ所に位置させた。そして、この効果をGAL7のC末に連結したlacZ遺伝子の産物 β -ガラクトシダーゼ活性で検討した。この結果、配列によって結果が異なり、片方は位置に影響されず、天然のUASとはほぼ同等の転写量を誘導したが、もう一方のUASは、TATAボックス直後に連結した場合には活性が低く、その距離がひろくに従って活性は上昇した。以上の事からUASは、その配列や位置によって転写の誘導の仕方が異なってくる事が示唆された。