

1Cp-6

酵母菌の減数分裂遺伝子の発現調節機構

II. 胞子形成に関与する *spo6* 遺伝子のクローニング

岸田正夫・上平昌弘・下田親 (大阪市大・理・生物)

酵母菌の生活環において、減数分裂は胞子形成過程の前段階に位置する。この両過程は相互に深く関連しており、突然変異によって減数分裂が中断されると、多くの場合、胞子形成も起こらない。したがって、胞子形成に関与する遺伝子の発現は、減数分裂遺伝子の働きにより制御されている可能性が考えられる。分裂酵母 *S. pombe* では胞子形成できない突然変異体が多数分離され、その遺伝解析から少なくとも、11個の遺伝子が胞子形成の完了に必須であると考えられる。これらの胞子形成遺伝子の働きと、発現調節を減数分裂との係りの中で解明するため、渡者らはこれらの胞子形成遺伝子のクローニングを進めてきた。今回は *spo6* 遺伝子のクローニングについて報告する。

分裂酵母 *S. pombe* では減数分裂に伴うスピンドル(微小管)の形成は、核膜上の spindle pole body (SPB) により支配されている。SPB はオニ分裂に先立ち、倍化した後、層状に構造変化をおこす。将来、胞子壁へと肥厚する前胞子膜は、この分化した SPB の近傍から核をとりかこむ様に発達してくることが知られている。*spo6* 変異をホモに持つ二倍体では、減数分裂は完了し4個の一倍体核は形成されるが、前胞子膜は形成されない。オニ分裂後、SPB の構造変化は認められず、次第に退化してくることが観察されており、*spo6* 遺伝子は SPB の構造変化と何らかの関係があるらしい(平田・田中・下田, 未発表)。一方、*spo6* 遺伝子は渡者らの遺伝解析により、オニ染色体の *ade1* と強く連鎖(2.6 cM)していることが明らかとなった。

mes1 遺伝子などの減数分裂遺伝子と同様に、*spo6* 遺伝子も、*S. pombe* を宿主とする形質転換を利用してクローニングした。シヤトルベクター pDB248 (12.1 Kb) に、*S. pombe* ゲノム DNA の Hind III 断片を結合した gene bank より、*spo6* 変異を相補し、胞子形成を回復したクローンを複数単離した。これらは、染色体上の *spo6* 遺伝子の復帰突然変異によるものではなく、組換えプラスミドにもとづく形質転換体であることを確認した。大腸菌中で増殖した後、精製した組換えプラスミド pDB(*spo6*)1 は、*spo6* 遺伝子座内の3つの異なる変異アリルを完全に相補し、正常な胞子を形成させることがわかった。制限酵素分析の結果、pDB(*spo6*)1 はベクター pDB248 の Hind III 部位に、*S. pombe* ゲノム DNA 由来の 4.3 Kb の Hind III 断片が挿入されていた。この挿入配列中の2個の Bgl II 部位には含まれた 1.0 Kb を欠失させたプラスミド pDB(*spo6*)S11 は、*spo6* 変異を相補する能力を失っていた。また、この 1.0 Kb の Bgl II 断片のみをベクター pDB248 の Bam HI 部位に結合した pDB(*spo6*)S2 も、*spo6* 変異を相補できなかった。したがって、*spo6* 遺伝子を相補する配列は、4.3 Kb Hind III 断片上の2つの Bgl II 部位のいずれか一方、もしくはその両方をまたいで存在していることが示唆された。*S. pombe* DNA を Hind III で完全分解した後、pDB(*spo6*)1 をプローブとしたサザンハイブリダイゼーションを行ったところ、4.3 Kb のバンドの他に、約10本の弱くハイブリダイズするバンドが検出された。この点については現在検討中である。