

1Ba-9

酵母 *S. cerevisiae* における胞子形成遺伝子 (SPOT7) の発現調節 I. 発現のノザン法及び遺伝子融合法による解析

田中裕子, 壺井基夫, 大島武博* (大阪市大, 理, 生物
*サントリー, 生医研)

酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* は真核生物としての基本的な構造と機能をもつ単細胞生物である。栄養源豊富な培地中では出芽法による栄養生長を行うが、倍數体細胞は窒素源枯渇等の環境におかれると減数分裂を行い、配偶子でありかつ休眠細胞である胞子を形成する。この胞子形成過程は、1%酢酸カリウムのみを含む培地に細胞を移すことによって誘導される。この様に、*S. cerevisiae* の胞子形成過程は真核生物の減数分裂及び細胞レベルの分化の優れたモデル系であると考えられる。

この胞子形成過程の進行には約50個の遺伝子の発現が必要であると推測されている。演者らは既に、胞子形成不能突然変異体の遺伝子解析により SPOT1 ~ SPOT23 の胞子形成遺伝子を明らかにした。

S. cerevisiae の胞子形成はこれらの遺伝子の適切な発現によって支配されていると考えられる。この発現調節機構を明らかにするため、演者らは胞子形成遺伝子のクローニングを行ない、YEp13シャトルベクターを用いたジーンバンク中より SPOT7 突然変異を相補するプラスミドを得た。またこのプラスミド上には真に野生型 SPOT7 遺伝子がクローンされていることを明らかにした (日本植物生理学会大会 1984年)。

このクローン化された SPOT7 遺伝子が真に胞子形成過程で特異的に発現しているならば、この遺伝子のプロモーター部位にこの特異性が存在する可能性が考えられる。そこで大腸菌 λ クトースオペロンの構造遺伝子との遺伝子融合を行うことにより解析を行った。即ち、SPOT7 遺伝子を含む DNA 断片をさらに酵素での断し種々の断片を調製し、 λ クトースオペロンと融合させた後、これらのプラスミドを持つ *S. cerevisiae* 細胞を胞子形成条件下において時に λ クトースオペロンの産物である β -ガラクトシダーゼ活性を示すコロニーを求めた。その結果、四種のプラスミドを得ることができた。これらは全て、SPOT7 遺伝子中の特定の DNA 断片を含んでいた。この事実から、SPOT7 遺伝子中のプロモーター部位及び転写の方向が示唆された。

次に、この遺伝子融合プラスミドを種々の胞子形成不能突然変異体に導入し、 β -ガラクトシダーゼの活性を測定した結果、SPOT1 ~ SPOT23 の突然変異をもつものの中には活性を示さないものがあった。即ち、SPOT7 遺伝子が発現するためには、それ以前に特定の遺伝子の発現が必須であることを示している。

一方、ノザン解析法により SPOT7 遺伝子の転写産物の発出も現在おこなわれているので併せて報告する。