

系統関係に基づく酵母分類の試み



研究ノート

金子 嘉 信*

An approach to yeast classification by analyzing phylogenetic relationship

Key Words : electrophoretic karyotyping, species, species, yeast, classification

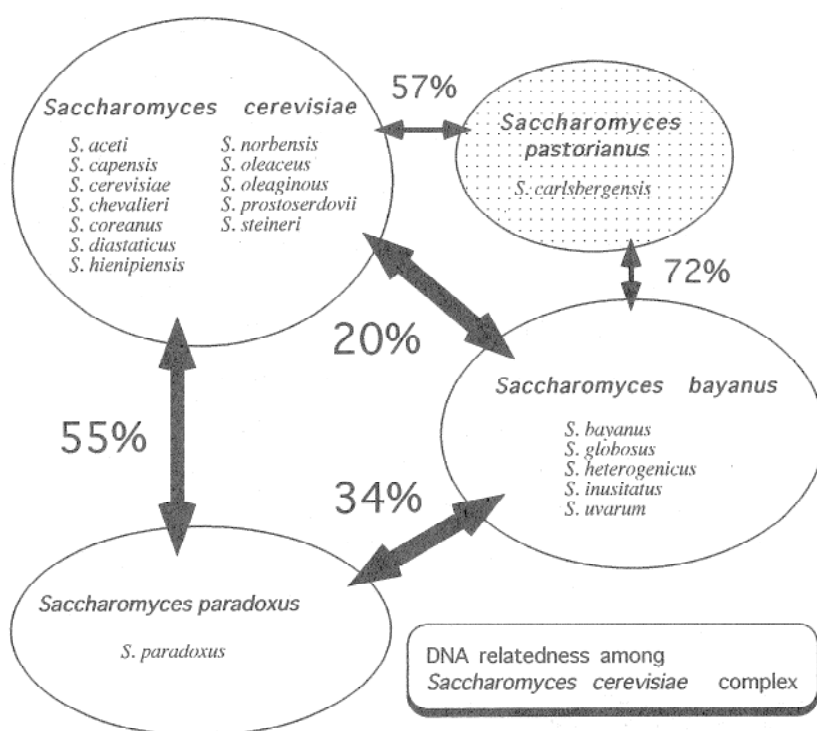


図1 *Saccharomyces cerevisiae* complex 内の DNA 類似度。

1. は じ め に

キリストの肉と血にたとえられるパンと葡萄酒をつくるために大きな役割を果たしている酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は私たちの生活には

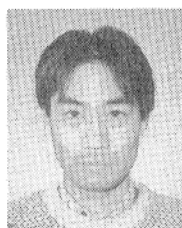
*Yoshinobu KANEKO

1956年3月19日生

1983年大阪大学大学院工学研究科
 醸酵工学専攻後期課程学位修得退学

現在、大阪大学工学部応用生物工学科、
 生物資源工学講座、助教授、
 工学博士、酵母遺伝学

TEL 06-877-5111 (内線 4362)



古くからなじみの深い微生物である。この酵母は酒蔵に棲みついているほか、樹液、昆虫、土壌からも分離される。10年ほど前にこの酵母の分類が大きく変更された¹⁾。酵母の分類においても生物学的種という概念を重要視しようという動きからである。それまで17種に細かく分類し、区別していた酵母を *S. cerevisiae* の1種に統合してしまった(この統合された *S. cerevisiae* を *S. cerevisiae* complex と呼ぶ)。しかし、DNA 相同性をハイブリダイゼーション法で推定してみるとこの *S. cerevisiae* complex にはお互いに低い相同性を示す3つのグループが含ま

れていることが判明し^{2,3)}(図1), これらのグループ間では生物学的種の基準にしている交配性を調べると完全な交配性を示さず, 雑種株の胞子生存性がないことがわかった^{4,5)}. そこで, DNA 相同性を指標にして少なくとも3つの種に分類しようというのが最近の考え方である. この *S. cerevisiae* complex に含まれる *S. bayanus* と *S. cerevisiae* について遺伝子レベルの比較を紹介する.

2. *S. bayanus* のガラクトースの発酵性に関与する遺伝子

以前の分類基準では6種類の糖の発酵性パターンを比較して, ガラクトースを発酵するものを *S. cerevisiae*, しないものを *S. bayanus* としていた. *S. cerevisiae* でのガラクトース代謝系は詳しく解析されている. そこで, ガラクトースを発酵しない *S. bayanus* では代謝系自体が存在しないのか, あるいは突然変異で発酵能を失っているのかを調べてみた. *S. bayanus* 基準株について *S. cerevisiae* のガラクトース非発酵突然変異(7種類)との相補試験を行った結果, *gal 4* 変異とのみ相補しないことがわかり, *S. bayanus* 基準株は *gal 4* 変異株であることがわかった⁴⁾. クローン化されている *S. cerevisiae* の *GAL 4* 遺伝子をプローブとして *S. bayanus* の

相同遺伝子を検出すると制限酵素地図の異なる領域が検出でき⁴⁾, さらに *S. bayanus* からガラクトースを資化できる変異株も取得できた. したがって, 調べた *S. bayanus* 株は活性型になりうるが, 機能を失っている *gal 4* 遺伝子を持っていると結論した. ロシアの研究者たちもいくつかの *S. bayanus* 株について同様な相補性試験を行っており, それらの株が *gal 1*, *gal 2*, *gal 4* 変異のいずれかの変異株であったことを確認している.

3. 電気泳動による核型解析

現在では酵母の染色体 DNA をパルスフィールドゲル電気泳動によって1本ずつ分離することが可能である⁶⁾. この染色体 DNA の電気泳動パターンを電気泳動核型と呼び, 菌株の同定に利用しつつある. *S. cerevisiae* のゲノムは0.2~2Mb サイズの16本の染色体から構成されており, 詳細な遺伝子地図が報告されている⁷⁾. 電気泳動型として観察される DNA バンド数は菌株により多少の違いがあり, 通常10~15である. 菌株の違いによる微妙な電気泳動型の違いは「染色体長さの多型」と呼ばれ⁸⁾, このことを指紋のように利用することで菌株を識別できる. そこで, *S. bayanus* の基準株及びその子孫株の染色体を調べてみた⁸⁾. *S. bayanus* のゲノ

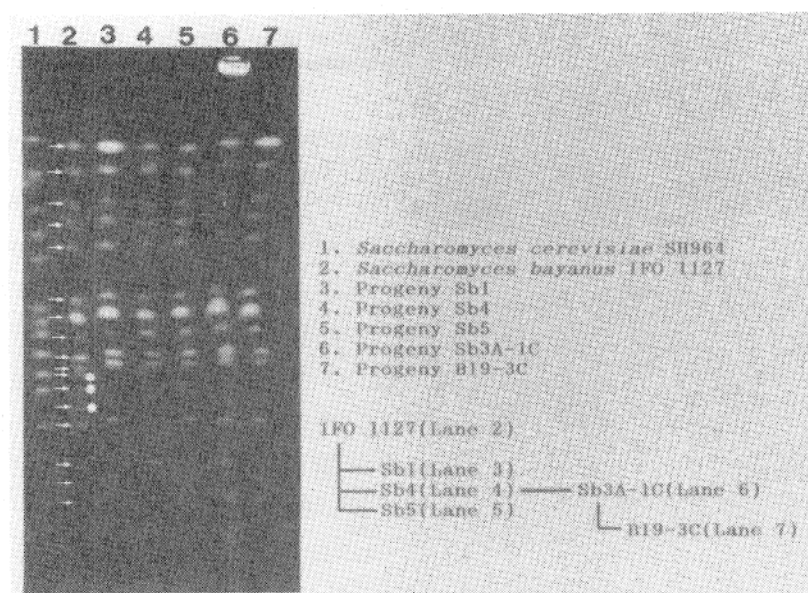


図2 *Saccharomyces bayanus* 基準株とその子孫株の電気泳動核型. 右向き矢印は *Saccharomyces bayanus* 基準株で観察された染色体 DNA バンドの位置を示す. 3つの*印は子孫株で観測されなかった染色体 DNA バンドを示している.

△構成は *S. cerevisiae* と同じ染色体 16 本で、基準株は $2n + 3$ の異数体であることが判明した (図 2)。また、サイズだけの判定では *S. bayanus* の染色体は *S. cerevisiae* と同じ染色体構成であり、DNA 相同性の低さは電気泳動核型に顕著な相違として反映されていなかった。しかし、個々の遺伝子の染色体上の配置に違いがあるかもしれない。今後詳細な解析を行う予定である。

4. アクチン遺伝子の比較

各種生物間で保存性が高く、細胞骨格や分泌機能に重要な役割を果たしているアクチンは *S. cerevisiae* 細胞内でも豊富に存在するタンパク質の一つである。*S. cerevisiae* のアクチン遺伝子は 309 の塩基のイントロンを持っている。そこで、DNA 相同性の低さがアクチン遺伝子にどのように反映されているか調べた。*S. bayanus* のアクチン遺伝子をクローニングし、2.9kbp の塩基配列を決定したところ、375 個からなる推定アミノ酸配列は *S. cerevisiae* と完全に同一であったが、塩基配列レベルでは 1125 塩基のうち 55 個 (5%) の違いが見られた。その違いはコドンの第 3 番目のみで、コドン使用頻度に若干影響が出ており、特に Ile, Ser, Thr では U より C の方が好まれていた。このため、アクチン遺伝子のエキソン部分の GC 含量は *S. cerevisiae* より 2.9% 高くなっていた。図 3 に示すようにイントロンは *S. cerevisiae* より 40 塩基長くなっており、72% の一致率であった。5'、3' 非翻訳領域についてはそれぞれ

82%, 77% の一致率であった。このような相違は第 III 染色体全塩基配列決定の際に観察された *S. cerevisiae* の株間の塩基配列の違いより 10 倍ほど大きく、両者の種分化の過程を反映していると考えている。

5. お わ り に

S. bayanus の染色体数は *S. cerevisiae* と同じであると考えられるが、塩基配列レベルでの変化がかなり蓄積されていると予想される。このことが両者の雑種形成は可能であるが、その子孫株が得られない一因であると考えている。微生物の分類は分子生物学の解析手法を取り入れ、系統を正しく反映したものへと変わりつつある。細菌と酵母では GC 含量、DNA 相同性、電気泳動核型、rRNA 配列などの情報が重要視されており、系統を反映した分類体系確立への研究が進行中である。顕微鏡観察から始まった微生物分類学は遺伝学や生化学の成果を取り入れて発展してきたが、単なる整理学に終わらず生物界の進化の問題にも確かな証拠を提供できる時代が到来しそうである。

参 考 文 献

- 1) Yarrow, D. : The yeasts : a taxonomic study (ed. N. J. W. Kreger - van Rij), Elsevier Science Publishers B. V., p.382 (1984).
- 2) Vaughan Martini, A., Martini, A. : Antonie van Leeuwenhoek, 53, 77

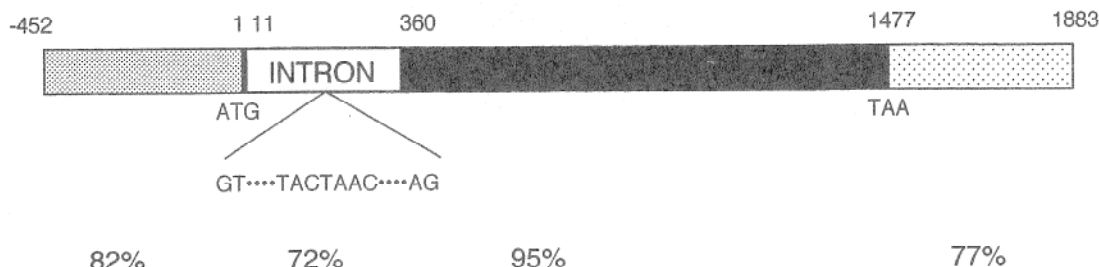


図 3 *Saccharomyces bayanus* 基準株のアクチン遺伝子の構造略図。
翻訳開始コドン ATG の A を 1 とし、5' 上流側に負番号を、3' 側に向けて正番号をつけている。網かけ領域は非翻訳領域を、黒塗り領域はエキソン部分を、INTRON 表示の白抜き部分はイントロン部分を示す。イントロンは塩基番号 111 から 359 までで、終止コドン TAA の T が 1477 番目である。% 表示の数字は *S. cerevisiae* のアクチン遺伝子 *ACT 1* との塩基一致率を 5' 上流領域、イントロン部分、エキソン部分、3' 下流領域の順に示している。

- (1987).
- 3) Vaughan Martini, A. : System. Appl. Microbiol., 12, 179 (1989).
- 4) Banno, I., Kaneko, Y. : Yeast, 5 (spec. Iss.), S373 (1989).
- 5) Naumov, G. I. : Studies in Mycology, 30, 469 (1987).
- 6) Carle, G. F., Olson, M.V. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 3756 (1985).
- 7) Mortimer, R. K., Schild, D., Contopoulou, C. R., Kans, J. A. : Yeast, 5, 321 (1989).
- 8) Kaneko, Y., Banno, I. : Inst. Ferment. Osaka Res. Commun., 15, 30 (1991).
- 6) Carle, G. F., Olson, M.V. : Proc.

