

研究報文

*Zygosaccharomyces rouxii*のゲノム解析(1)
 ～*Z. rouxii*の接合型決定に關与する染色体の構造多様性～

茂木亮介, 渡部潤, 上原健二, 茂木喜信
 (ヤマサ醤油株式会社・製造本部)

(平成30年1月10日受理)

Genomic analysis of soy sauce yeast *Zygosaccharomyces rouxii* (1)
 -Diversity of mating-type chromosome structures-

Ryosuke Mogi, Jun Watanabe, Kenji Uehara, Yoshinobu Mogi

Manufacturing Division, Yamasa Corporation

一倍体の*Zygosaccharomyces rouxii*において接合型決定に關与する染色体の構造多様性に関して検討を実施した。*Z. rouxii*では接合型決定に關与する遺伝子座間での転座により、染色体構造に多様性が生じていることが明らかになった。

緒言

酵母の接合型決定に關する分子メカニズムは *Saccharomyces cerevisiae*において良く研究されている。*S. cerevisiae*の接合型はmating-type (MAT) 遺伝子により接合型(aまたは α)が決定されており、異なる接合型細胞(a細胞と α 細胞)の間の接合により二倍体細胞であるa/ α 細胞となる。*S. cerevisiae*のMAT遺伝子座にはW, X, Y, Z1, Z2の5つの領域があり、Y領域にはa型または α 型の情報がコードされている¹⁾。Y領域がa型をコードしている細胞(MATa)はa細胞、 α 型をコードしている細胞(MAT α)は α 細胞としてふるまう。MATaはa1を、MAT α は α 1と α 2を発現しており、これらが*S. cerevisiae*のその接合型としてのふるまいを決定している。*S. cerevisiae*を含む一部の酵母はその進化の過程において、全遺伝情報が倍になる全ゲノム重複と呼ばれる現象を経験している。*S. cerevisiae*に至る系統から全ゲノム重複後に分岐した種と、全ゲノム重複前に分岐した種とでは接合

型決定の様式に違いがある。前者はMATaからa1のみを発現するのに対し、後者はMATaからa1とa2を発現する^{2,3)}。*S. cerevisiae*はMAT遺伝子座と類似した構造をもつHML遺伝子座とHMR遺伝子座を有しており(ただしHMR遺伝子座にはW領域とZ2領域が存在しない)、通常、HMLには α 型の情報が、HMRにはa型の情報がコードされている。HMLとHMRは染色体末端のサブテロメリック領域近傍に位置しており、SIR遺伝子群などによってその発現が抑制されているため、接合型決定には直接関与しないが、接合型変換の際に重要な役割を果たしていることが知られている。例えば、*S. cerevisiae*のa細胞(MATa)が α 細胞(MAT α)に変換する場合、Y領域とZ1領域との間がHOエンドヌクレアーゼにより切断され^{4,5)}、その修復の際にHML遺伝子座が利用されることでMAT遺伝子座の情報がaから α へと変換される⁶⁾(図1)。

醤油の主発酵酵母である*Zygosaccharomyces rouxii*は、醤油諸味中でエタノールや、醤油の特徴香成分の

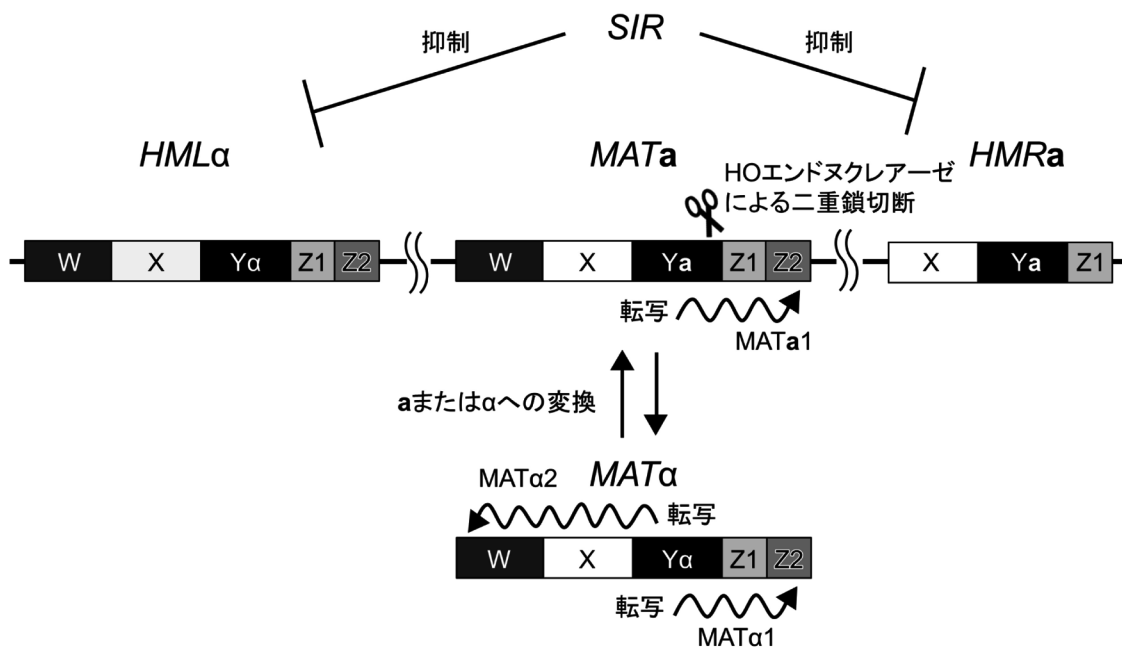


図1 *S. cerevisiae*における接合型変換機構

ひとつである4-ヒドロキシ-2(又は5)-エチル-5(又は2)-メチル-3(2*H*)-フラノンを生成する重要な役割を果たしている^{7,8)}。*Z. rouxii*は有性生殖環を有することから、動物や植物で広く実施されている交雑育種を行うことが原理的には可能である。しかし、*S. cerevisiae*などに比べると接合型決定や接合型変換についての解析が遅れていたため、*Z. rouxii*の交雑育種はこれまで積極的に実施されていなかった。

全ゲノム重複を経験していない*Saccharomyces*科の酵母において、*MAT*遺伝子座周辺の遺伝子構造(*DIC1-MAT-SLA2*)は進化的に良く保存されていることが知られており⁹⁾、この遺伝子構造を指標にすれば配列が互いに類似する*MAT*、*HML*および*HMR*(本研究ではこれらをまとめてmating-type-like(*MTL*)遺伝子座と呼ぶ)から接合型決定に関与する*MAT*遺伝子座を特定することができる。しかし、全ゲノム重複を経験していない*Z. rouxii* CBS 732株のゲノム解析データを探索しても、この遺伝子構造を見出すことはできなかった。そこで、本研究では一倍体*Z. rouxii*の*MAT*遺伝子座を明らかにするため、種々の検討を実施した。

実験方法

株、プラスミド、培地、および遺伝的方法

使用した株は文献10のTable 1に示した。*Z. rouxii*の形質転換にはエレクトロポレーション法¹⁰⁾を用いた。G418を含むYPD寒天培地とウラシルを含む、または含まないSCD寒天培地を形質転換体の選択に使用した。本研究で使用したプライマーは文献10のTable S 1に示した。ただし、*MTLaF*は以下の配列のものを使用した(5'-AAGCTGTAGCAGCTAATTGTGGTTT-3')。

PCRおよびシーケンス解析

染色体上の*MTL*遺伝子座は、プライマー1, 2, 3, A, B, Cまたは1', 2', 3', A', B', C'を用いて増幅した。それぞれのPCR反応溶液(50 μ l)は、DNA溶液(約10 ng) 1 μ l, 2 \times KOD-FX neo buffer (Toyobo, Osaka, Japan), 0.4 mM dNTP溶液 (Toyobo), 25 pmolプライマー溶液, KOD-FX DNA polymerase (Toyobo) 1 unitを混合して作成した。PCRは94°Cで2分加熱した後に、98°Cで10秒, 57°Cで15秒, 68°Cで2分加熱するサイクルを33回繰り返した。増幅産物はアガロースゲル電気泳動によって確認した。

MTL遺伝子座の配列情報を得るために, Wizard SV Gel and PCR Clean-Up system (Promega, Fitchburg, USA) を用いてPCR産物を精製した。シングルエクステンションシーケンシングは外注分析により実施した(Greiner-Japan, Tokyo, Japan)。

遺伝子型(aまたは α)を同定するために, a型または α 型の情報をコードしている領域を含む断片を, プライマーMTLaFまたはMTL α FとA', B', またはC' を用いて染色体からPCRにより増幅した。PCRは94°Cで2分加熱した後に, 98°Cで10秒, 58°Cで15秒, 68°C30秒加熱するサイクルを33回繰り返した。

染色体DNAの単離とパルスフィールドゲル電気泳動

プラグ内の染色体DNAの調製は既報²³⁾に若干の変更を加えて行った。LyticaseのかわりにZymolyaseを用い30°Cで一晩細胞を処理した。pulse-field certified agarose (Bio-Rad, Hercules, CA) を用いて1%アガロースゲルを作成し, CHEF apparatus (Bio-Rad) を用いて, 10°Cで0.5×TBEバッファー内で泳動した。スイッチングは300-400秒または400秒, 泳動時間は120時間または180時間, 角度は120°, 電界強度は3 V/cmで行った。

サザンブロット解析

パルスフィールドゲル電気泳動により分離された染色体DNAをHybond-N+ membrane (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) に転写した。PEX2, ZYRO0C18458g, SIR1, VAC17, FET4 遺伝子のOpen-reading frame領域をプローブに用いた。これらの実験にはPCR digoxigenin probe synthesis kit (Roche, Basel, Switzerland) と Detection Starter kit II (Roche)を用いた。

接合型変換頻度の推定

接合型変換頻度の推定は半定量PCRによって行った。プライマーMTLaFまたはMTL α FとTypingRを用いて, a型または α 型の情報をコードしている領域を含む断片を, DA 2 とDA 2 ho Δ の染色体DNAからPCRによって増幅した。PCRは94°Cで2分加熱した後に, 98°Cで10秒, 58°Cで15秒, 68°C30秒加熱する

サイクルを39回繰り返した。

染色体相互転座頻度の推定

Z. rouxii DA 2 AU株は, *S. cerevisiae*由来のURA 3 とADE2 を*Z. rouxii* DA 2 株のZYRO0C18458g遺伝子座に導入することで構築した。プライマーC18458gFとC18458gRを用いて, DA 2 株からZYRO0C18458gを増幅した。増幅産物をpT 7 blue (Takara Bio, Shiga, Japan) にクローニングし, このプラスミドをpTC 1 とした。pZEUをBgIIIによって消化し, URA3を含む断片をpTC1のBgIII認識部位に挿入した。URA3をZYRO0C18458g遺伝子座に導入するために, プライマーC18458gFとC18458gRを用いてこのプラスミドをPCRにより増幅し, 増幅産物を形質転換に用いた。ADE2 をZYRO0C18458g遺伝子座に導入するために, プライマーScADE2 InsFとScADE2 InsRを用いて, *S. cerevisiae* BY4743からADE2を増幅し, 増幅産物を形質転換に用いた。得られた形質転換体をDA 2 AU株とした。HO欠損株を作成するために, プライマーHODisFとHODisRを用いてG418耐性遺伝子をpUGから増幅し, 増幅産物をDA 2 株の形質転換に用いた。染色体相互転座の頻度を定量するために, アデニンとウラシルを添加したYPD培地において, 30°Cで42時間DA 2 AU株を振とう培養した。その後, 5-FOA寒天培地(0.2% 5-フルオロオロチン酸を添加したSCD寒天培地)上に塗布し, 30°Cで2週間培養した。赤色のコロニー(5-FOAプレート上で生育できる)を5-FOA寒天培地に植え継ぎ, 再度生育してきたコロニーの遺伝子型をPCRにより判別した。染色体相互転座頻度は, 染色体相互転座株とYPDプレート上でのコロニー形成数の相対的差異により決定した。

結 果

一倍体*Z. rouxii*の単離

現在*Z. rouxii*と定義されている株は, 大きく3つのグループに分けることができる。*Z. rouxii* CBS 732株を含む*Z. rouxii*基準株グループ, 非公式に*Z. pseudorouxii*と呼ばれる*Zygosaccharomyces* sp.グループ, *Z. rouxii*基準株グループと

Zygosaccharomyces sp.のゲノムを1セットずつ(それぞれT-サブゲノムとP-サブゲノム)有するハイブリッドな二倍体グループである^{13, 14)}。これらのグループの中から本研究の対象とした一倍体*Z. rouxii*のみを選抜するために、T-サブゲノム特異的なプライマーとP-サブゲノム特異的なプライマーを用いたPCR解析を行った(データ非掲載)。CBS 732株に由来するDL 2株からはT-サブゲノム型の*ADE2*と*SOD2*の増幅が認められた。CBS 732株の*ADE2*欠損株であるDA 2株からは、T-サブゲノム型の*SOD2*の増幅が認められた。さらに、NBRC 1130株、NBRC 0686株、NBRC 0740株、NBRC 1053株、NBRC 1733株から

はT-サブゲノム型の*ADE2*と*SOD2*の増幅が認められた。また、これらの株からはP-サブゲノム型の遺伝子の増幅が認められなかったことから、NBRC 1130株、NBRC 0686株、NBRC 0740株、NBRC 1053株、NBRC 1733株は一倍体であると推定された。一方、NBRC 1876株、NBRC 1877株、NBRC 110957株からは両サブゲノム型の*ADE2*と*SOD2*が検出されたことから、これらの株は二倍体であることが示唆された。また、上記の結果の妥当性は、フローサイトメトリーによる核型解析によって確認した(データ非掲載)。

*Z. rouxii*におけるMTLフランキンング領域の多様性

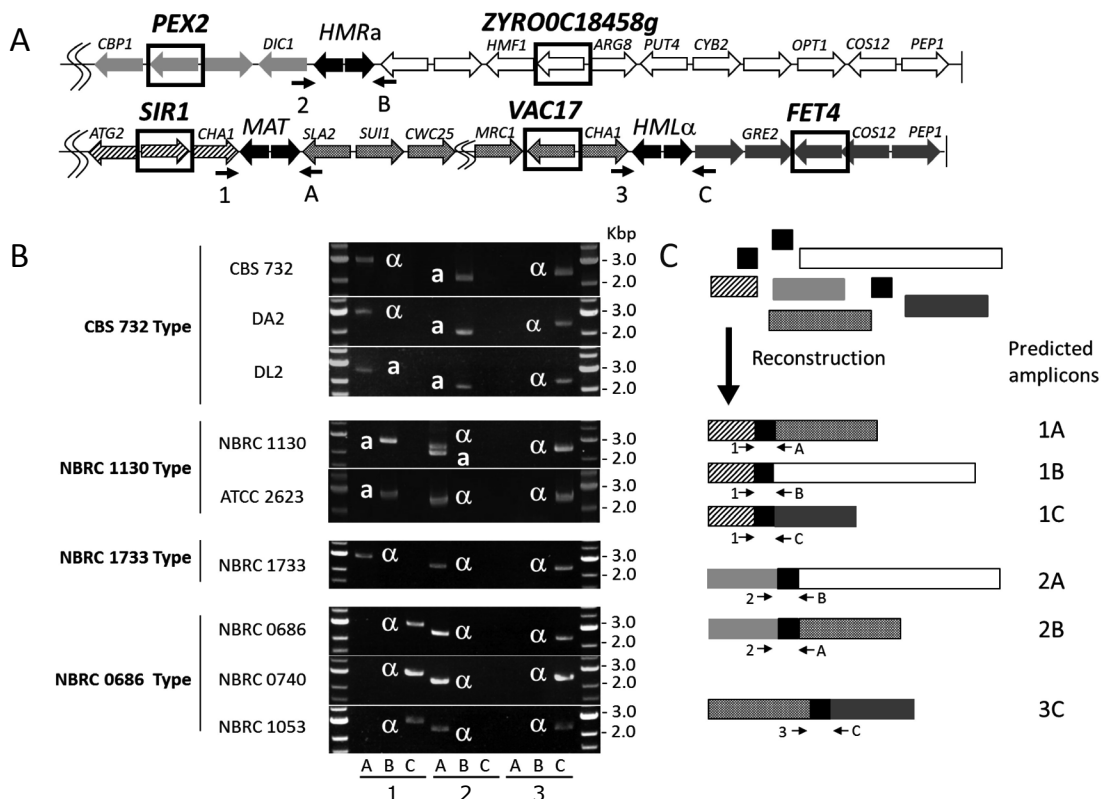


図2 *Z. rouxii*におけるMTLフランキンング領域の構造と解析

A. *Z. rouxii* CBS 732株のMTLフランキンング領域

(四角で囲まれた遺伝子のOpen-reading frame領域をサザンプロット解析におけるプローブに用いた(図3))

B. *Z. rouxii*におけるMTLフランキンング領域のPCR増幅産物

(αまたはaはMTL遺伝子座にコードされている情報を示す)

C. PCR解析の結果より推定されるMATフランキンング領域

Gordonらは、全ゲノム重複を経験した酵母において、HOエンドヌクレアーゼに触媒される接合型変換に伴うDNA修復エラーによって*MAT*遺伝子の近傍(*MAT*フランキング領域)に位置している遺伝子が欠失したり、ゲノム上の他の領域に転座したりすることを示した⁹⁾。また彼らは、*Z. rouxii*の*MAT*遺伝子座のX領域側に隣接する遺伝子は*DIC 1*ではなく、*CHA 1*であることを報告している⁹⁾。*Z. rouxii* CBS 732株の遺伝子構造、*CHA1-MAT-SLA2*もHOエンドヌクレアーゼの影響により形成されたのであろうか。我々は、この構造がCBS 732株以外の株にも保存されているかを確認することにした。そこで、*MAT*、*HML*、*HMR*フランキング領域(*MTL*フランキング領域)の外側に特異的にアニールするプライマーセットを用いた

PCR解析を実施した(図2A)。CBS 732株、DA 2株、DL 2株においてはプライマーペア 1-A、2-B、3-Cを用いた場合に増幅産物が検出された(図2B)。興味深いことに、保存機能が異なるがCBS 732株と同一の株であるはずのNBRC 1130株およびATCC 2623株においては、プライマーペア 1-A、2-Bでは増幅産物は検出されず、プライマーペア 1-B、2-A、3-Cを用いた場合に増幅産物が検出された。加えて、NBRC 1733株においてはプライマーペア 1-A、2-A、3-Cの組み合わせで、NBRC 0686株、NBRC 0740株、NBRC 1053株においてはプライマーペア 1-C、2-A、3-Cの組み合わせで増幅産物が検出された。これらの結果は、*Z. rouxii*における*MTL*フランキング領域には多様性があることを示唆していた。この増幅パターン

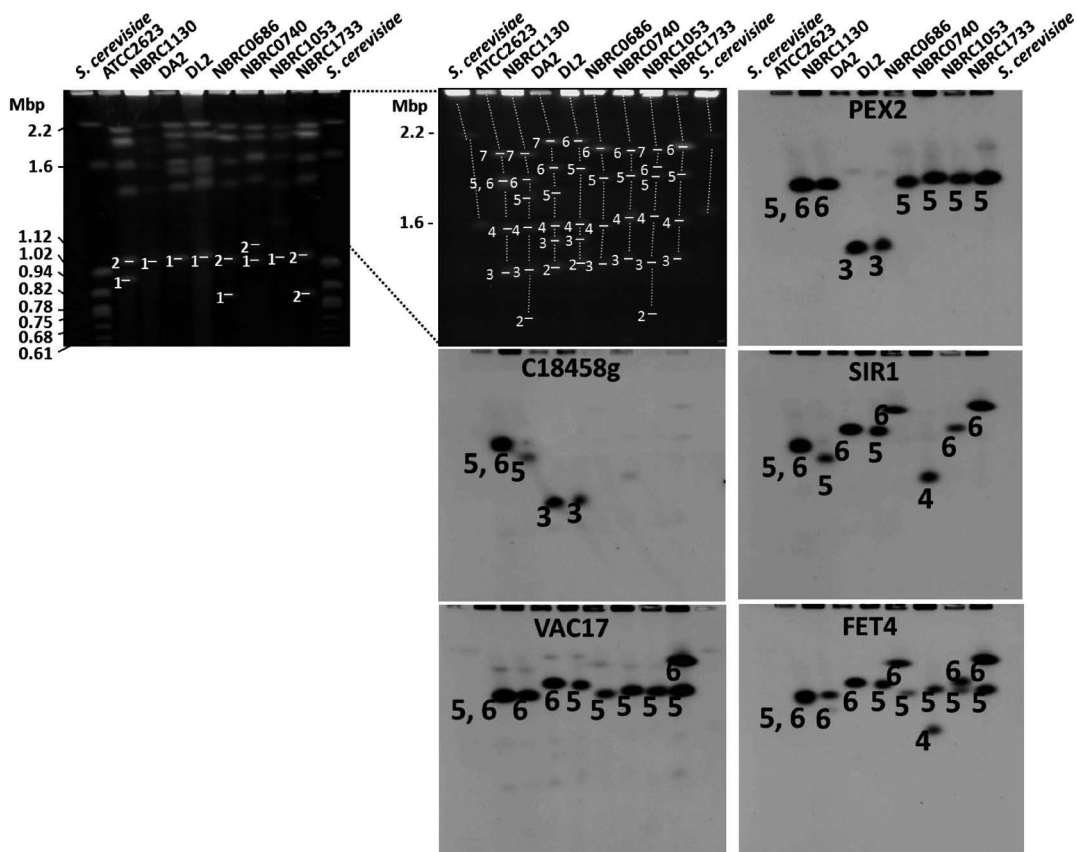


図3 *Z. rouxii*におけるPFGE解析と*MTL*フランキング領域に存在する遺伝子についてのサザンブロット解析(数字は染色体番号を示す)

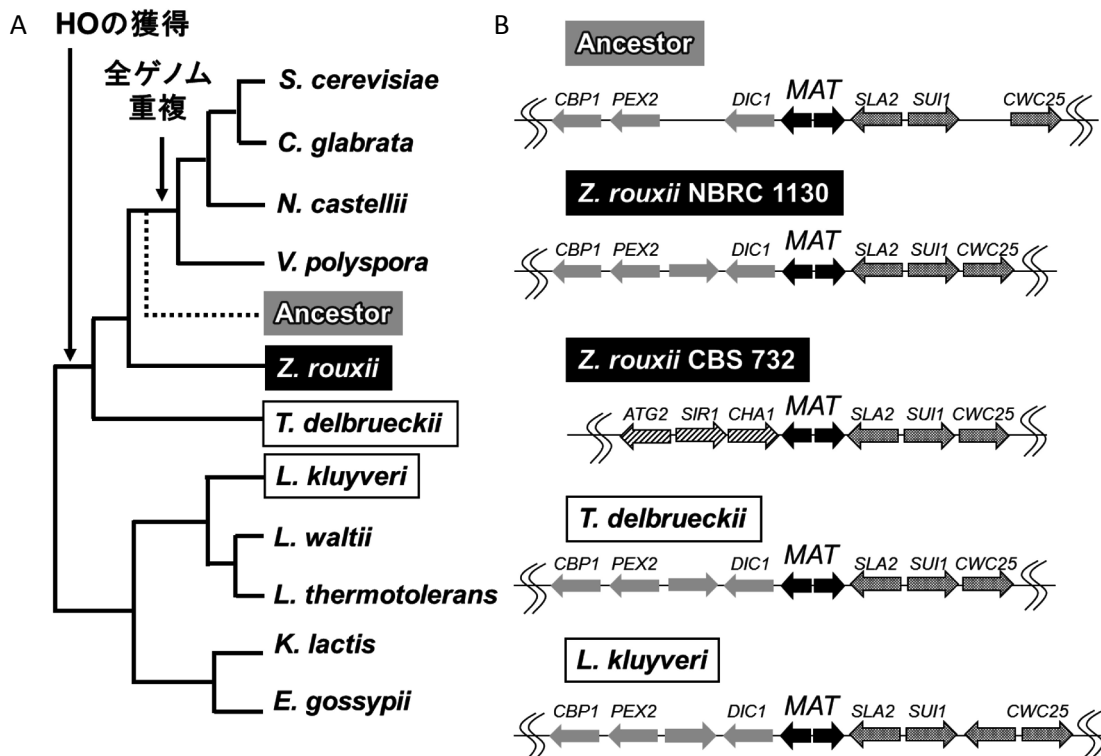


図4 *Z. rouxii*におけるMAT遺伝子座周辺の遺伝子構造

A. *Z. rouxii*とその近縁種の系統的關係

B. *Z. rouxii*とその近縁種におけるMAT遺伝子座周辺の遺伝子構造の比較

は、*MTL*遺伝子座間において図2Cに示すような転座が生じていると仮定すると矛盾なく説明が可能であった。各*MTL*遺伝子座にコードされている遺伝子型を同定するために、 α または α 遺伝子特異的なプライマー(MTL α FまたはMTL α F)と、それぞれの*MTL*フランキンク領域特異的なプライマー(A', B', C')を用いたPCR解析を実施した。その結果、各*MTL*がコードしている遺伝子型が推定された(図2B)。

MTL遺伝子座間の転座

*MTL*フランキンク領域における多様性が*MTL*遺伝子座間での転座に起因しているかどうかを確かめるために、パルスフィールドゲル電気泳動を用いて株間の核型を比較した。NBRC 1130株、DA2株、DL2株、ATCC 2623株は共通の遺伝的背景を持つにもかかわらず、核型が異なっていた(図3)。このことは、*Z. rouxii*において核型は不安定であることを示

唆していた。サザンブロット解析とCBS 732株のゲノムデータから、DA2株は*PEX2*と*ZYRO0C18458g*を第3染色体に、*SIR1*、*VAC17*、*FET4*を第6染色体にコードしていることが明らかになった。一方、DL2株は*PEX2*と*ZYRO0C18458g*を第3染色体に、*SIR1*、*VAC17*、*FET4*を第5染色体にコードしていた。NBRC 1130株は*PEX2*、*VAC17*、*FET4*を第6染色体に、*ZYRO0C1845g*と*SIR1*を第5染色体にコードしていた。NBRC 0686株およびNBRC 1053株は第5、第6染色体に、NBRC 0740株は第4、第5染色体に*FET4*を1コピーずつコードしており、*FET4*がコードされている2つの染色体の一方(第5染色体)には*PEX2*と*VAC17*が、もう一方(それぞれ第6、第6、第4染色体)には*SIR1*がコードされていた。これら3株からは、*ZYRO0C18458g*は検出されなかった。また、NBRC 1733株において、*VAC17*と*FET4*は第5、第6染色体に1コピーずつコードされてお

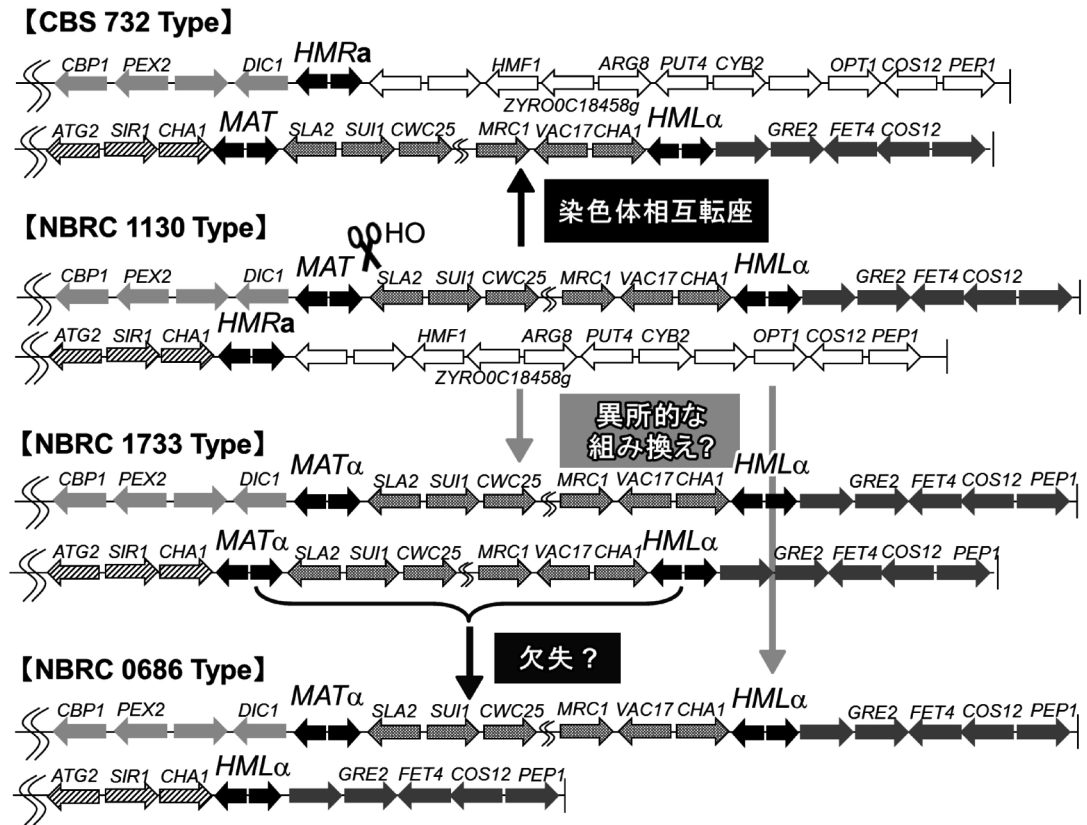


図5 *Z. rouxii*におけるMTL遺伝子座周辺の遺伝子構造多様性創出モデル

り, *PEX2* は第5染色体に, *SIR1* は第6染色体にコードされていた。この株においても *ZYRO0C18458g* は検出されなかった。PCR解析の増幅パターンとサザンプロット解析の結果を統合して考えると, *MTL* フランキング領域の多様性は *MTL* 遺伝子座間での染色体転座に起因すると考えられた。

ATCC 2623株についてのサザンプロット解析において, *PEX2*, *ZYRO0C1845g*, *SIR1*, *VAC17*, *FET4* のシグナルはすべて同じ場所に位置していた。このことは, これらの遺伝子がすべて同一の染色体上にコードされているか, 大きさがよく似た異なる染色体にコードされていることを示唆していた。

*Z. rouxii*におけるオリジナルなMAT遺伝子座周辺の遺伝子構造

NBRC 1130株, DL 2株, DA 2株, ATCC 2623株

は共通の遺伝背景下にあるにもかかわらず, *MAT* 遺伝子座周辺の遺伝子構造に多様性が見られた。そこで, *Z. rouxii*におけるオリジナルな *MAT* 遺伝子座周辺の遺伝子構造を確かめるために, それぞれの株における *MTL* フランキング領域を比較した。Gordonらは, 全ゲノム重複を経験する直前の *Saccharomyces* 科の祖先株における遺伝子構造を推測している¹⁹⁾。この祖先株や *Z. rouxii*に分岐する前に *Saccharomyces* 系統から分岐した *Lachancea kluyveri*, *Z. rouxii*の近縁種である *Torulaspora delbrueckii*の *MAT* 遺伝子座周辺において, *DIC1-MAT-SLA2* という遺伝子構造が保存されている⁹⁾。この構造はNBRC 1130株とATCC 2623株には保存されていたが, CBS 732株では, *CHA1-MAT-SLA2* という構造になっていた(図4)。近縁種に *DIC1-MAT-SLA2* という遺伝子構造が保存されていることを鑑みると, NBRC 1130株に

における*MAT*遺伝子座周辺の遺伝子構造がオリジナルであり、CBS 732株における*MAT*フランキンク領域は、*MAT*遺伝子座と*HMR*遺伝子座の間での相互転座によって形成されたと考えるのが自然である(図5)。

NBRC 0686株, NBRC 0740株, NBRC 1053株, およびNBRC 1733株における*MAT*フランキンク領域も、*MAT*遺伝子座と*HMR*遺伝子座, または*MAT*遺伝子座と*HMR*遺伝子座の間での組み換えを伴う相互転座により形成されたと考えられた(図5)。この転座により、NBRC 0686株, NBRC 0740株, NBRC 1053株, およびNBRC 1733株において*ZYRO0C1845g*を含む*HMR*遺伝子座の右側の領域が欠失したと推測された。

MTL遺伝子座間における転座頻度

なぜ*MAT*遺伝子座周辺の配列は多様に富むのであるか。この多様性は*Z. rouxii*が*HO*遺伝子を保持していることと関連しているのだろうか。*MTL*遺伝子座間の転座頻度を確かめるために、DA2株またはDA2*ho*Δ株の*ZYRO0C1845g*遺伝子座に*ScADE2*と*ScURA3*を導入したDA2 AU株を構築した。この株は、*HMR*の右側の領域が欠失し、*MAT*または*HML*の右側の領域と置換された場合(それぞれDA2 AU-M

株, DA2 AU-L株とする)に、5-FOAプレート上で赤色のコロニーを形成する(図6A)。DA2株において、DA2 AU-M株, DA2 AU-L株の出現頻度は、それぞれ $2.44 \pm 3.03 \times 10^{-7}$, $1.23 \pm 1.24 \times 10^{-7}$ であった。DA2*ho*Δ株におけるDA2 AU-M株, DA2 AU-L株の出現頻度は、それぞれ $1.51 \pm 9.73 \times 10^{-7}$, $1.87 \pm 1.46 \times 10^{-7}$ であった(図6B)。DA2株における*HO*遺伝子の欠損は、*MTL*遺伝子座間の転座頻度に有意な影響を与えなかった。また、*HO*遺伝子がDNA二本鎖切断と接合型変換を触媒していることを確かめるために、 α または α 遺伝子特異的なプライマーとフランキンク配列特異的なプライマーを用いた半定量PCRを実施した。その結果、DA2株はDA2*ho*Δ株に比べて、少なくとも8倍以上高い接合型変換頻度を示した(データ非掲載)。これらの結果は、*HO*エンドヌクレアーゼの獲得は*Z. rouxii*の接合型変換頻度を増大させたが、本実験条件下において、*MTL*フランキンク領域間の異所的な組み換えを伴う染色体転座は*HO*エンドヌクレアーゼに依らないことを示していた。

考 察

本研究の目的は、一倍体の*Z. rouxii*において接合

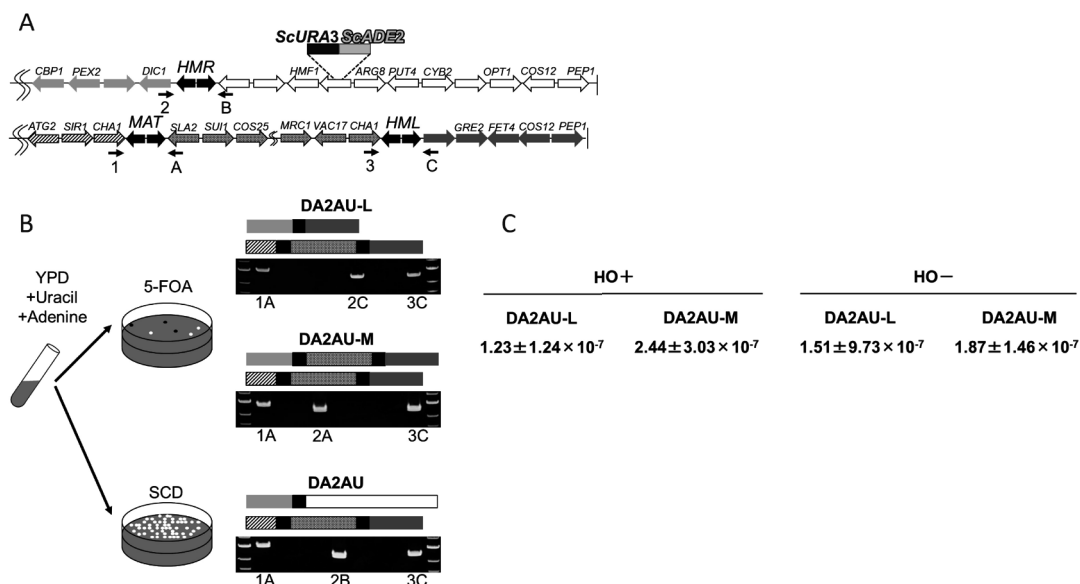


図6 *MTL*遺伝子座間における転座頻度の推定

A. DA2AUの構築

B. 染色体転座株スクリーニングの概略

C. 転座頻度

型を決定しているMAT遺伝子座を明らかにすることであった。種々の解析の結果, CBS 732株のゲノム解析データからは見出されなかった*DIC1-MAT-SLA2*の並び順がCBS 732株以外の株では保存されており, この構造的特徴を元にMAT遺伝子座が予測可能であることが明らかになった。

CBS 732株はATCC 2623株やNBRC 1130株と同一の株であるにもかかわらず, MAT遺伝子座周辺の遺伝子構造が異なっていた。本研究により, ATCC 2623株とNBRC 1130株が本来のMAT遺伝子座周辺の遺伝子の構造を保持しており, CBS 732株のMAT遺伝子座周辺の遺伝子構造は, MAT遺伝子座とHMR遺伝子座の間で起きた相互転座によって生じたと考えられた。もともと, CBS 732株は1932年にムスト(ワイン製造に用いるブドウ液)から単離され, オランダの保存機関CBSに保存された¹⁰⁾。その後, CBS 732株がアメリカや日本の保存機関であるATCCやNBRCに寄託され, ATCC 2623株やNBRC 1130株として保存されている。これらの株間におけるMAT遺伝子座周

辺の遺伝子構造の違いは, CBS 732株を植え継いでいる間に染色体相互転座が起きた株を, たまたまストックしてしまったことに起因すると考えられる(図7)。そのため, 本来は同一の株であるにもかかわらず, MAT遺伝子座周辺の遺伝子構造が異なっていると考えられる。不運なことに, MAT遺伝子座周辺の遺伝子構造がオリジナルなものではないにもかかわらず, CBS 732株は*Z. rouxii*の基準株としてゲノムシーケンスに用いられた¹⁷⁾。GordonらはCBS 732株が*CHA1-MAT-SLA2*という遺伝子構造を持つことを示したが⁹⁾, これはCBS 732株特異的なものであり, *Z. rouxii*において普遍的な遺伝子構造ではないことに注意が必要である。*S. cerevisiae*のように全ゲノム重複を経験した酵母は, 著しくMAT遺伝子座周辺の遺伝子構造が変化しているが, これは, 全ゲノム重複による遺伝子の倍加により, MAT遺伝子座周辺の必須遺伝子の必須性が低減したためであり⁹⁾, *Z. rouxii*におけるMAT遺伝子座周辺の構造変化とは意味合いが異なる

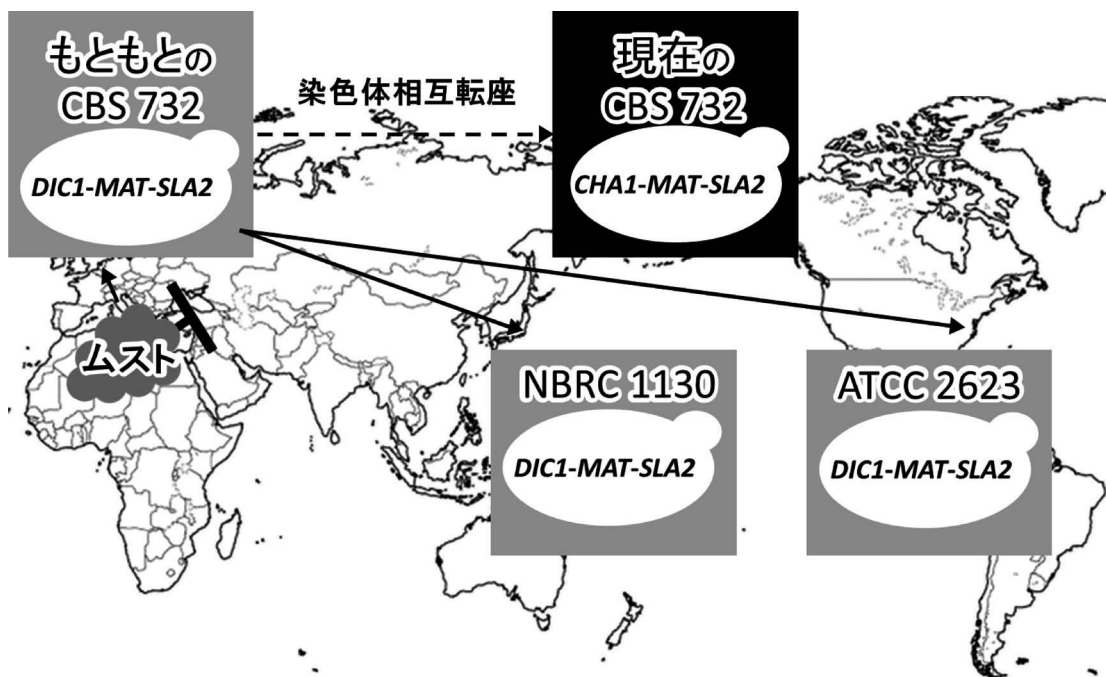


図7 CBS 732株とNBRC 1130株, ATCC 2623株間でのMATフランキンング領域の多様性の創出

NBRC 1130株において、プライマーペア 2-Aを用いたPCRにより \mathbf{a} と α に相当する2本のバンドが検出されたことは、この株が二倍体であるか、*MATa*と*MAT α* 株が混在していることを示している。しかしながら、PCRのシグナル強度から推定されるNBRC 1130株における \mathbf{a} と α の存在比には再現性がなかった。すなわち、 \mathbf{a} の増幅産物しか検出されないときもあれば、 α の増幅産物しか検出されなかったり、 \mathbf{a} と α の両方の増幅産物が検出されたりした。ゲノム抽出に用いるために前培養されたシングルコロニー中の \mathbf{a} と α の比が、実験毎に異なることが再現性の低さに起因しているのかもしれない。

いずれにしても、この結果と過去の観察結果¹⁸⁾を考慮すると、CBS 732株とNBRC 1130株は接合型変換が可能で潜在的にホモタリクな株(自殖可能な株)であると考えられる。一方、大変興味深いことに、NBRC 0686株、NBRC 0740株、NBRC 1053株、NBRC 1733株は \mathbf{a} 型の情報を有していなかった。これらの $\alpha/\alpha/\alpha$ 株(NBRC 0686株、NBRC 0740株、NBRC 1053株)や $\alpha/\alpha/\alpha/\alpha$ 株(NBRC 1733株)は*MTL*遺伝子座間の染色体転座によって生じたヘテロタリクな株(自殖不可能な株)であると考えられる。*S. cerevisiae*や*Candida grabrata*においても $\mathbf{a}/\mathbf{a}/\mathbf{a}$ または $\alpha/\alpha/\alpha$ の株が発見されており²⁰⁾、*MTL*から一方の情報が失われることは、酵母においてしばしばおこり得る現象だと解釈できる。

本研究の条件下において、DA2株はDA2 $ho\Delta$ 株の8倍以上の接合型変換頻度を示した。このことは、HOエンドヌクレアーゼの獲得が*Z. rouxii*の接合型変換頻度を増大させたことを示している。しかし、*S. cerevisiae*において、HOエンドヌクレアーゼを持つ細胞は $ho\Delta$ 細胞に比べて106倍高い接合型変換頻度を示すことが報告されており²¹⁾、このことはHOエンドヌクレアーゼが接合型変換に与える影響は酵母間で異なることを示している。

本研究では、*Z. rouxii*における*MTL*遺伝子座の多様性を解析し、*MTL*遺伝子座は*Z. rouxii*のゲノム中で安定性が低い領域であることを明らかにした。*MAT*遺伝子座の詳細な進化について明らかにするためには、さまざまな酵母における*MAT*遺伝子

座の構造的変化について解析する必要があると考えられる。近年、醤油や味噌のような高塩濃度環境から分離される*Z. rouxii*は*Z. rouxii*基準株グループと*Zygosaccharomyces* sp.が交雑して生じた異質二倍体であることが示唆されており、一倍体の*Z. rouxii*と比較して、その接合型決定機構は複雑であることが予測される。一倍体*Z. rouxii*の解析で得られた知見を基に、異質二倍体*Z. rouxii*における接合型決定機構の理解が深まることが期待される。

本研究は本誌に先立ちPLoS ONEに掲載されている。本文と図表の大部分は文献10より改変・転載している。本論文を引用する際は文献10を引用する必要がある。

要 約

1. 一倍体*Z. rouxii*の*MTL*フランキンク領域には多様性があり、これは接合型変換の際に起きる染色体転座によるものであることが示唆された。
2. ゲノムシーケンスに用いられた*Z. rouxii* CBS 732株の*MAT*遺伝子座周辺の遺伝子構造はオリジナルなものではなく、染色体相互転座によって生じたCBS 732株特異的な配列であることが明らかになった。
3. 本実験条件下では、HOエンドヌクレアーゼは*Z. rouxii*の接合型変換には寄与しているが、HOエンドヌクレアーゼと*MTL*遺伝子座間の染色体転座との関連は不明であった。

参 考 文 献

- 1) J.E. Haber : *Genetics*, 191, 33 (2012)
- 2) G. Butler et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 101, 1632 (2004)
- 3) S.J. Hanson and K.H. Wolfe : *Genetics*, 206, 9 (2017)
- 4) J.N. Strathern et al. : *Cell*, 31, 183 (1982)
- 5) R. Kostriken et al. : *Cell*, 35, 167 (1983)
- 6) J.R. Lydeard et al. : *Genes Dev.*, 24, 1133 (2010)
- 7) 上原健二ら : 本誌, 43, 245 (2017)
- 8) K. Uehara et al. : *J. Biosci. Bioeng.*, 123, 333 (2017)
- 9) J.L. Gordon et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*

- A. Biosci.*, **108**, 20024 (2011)
- 10) J. Watanabe et al. : *PLoS ONE*, **8**, e62121 (2013)
- 11) J. Watanabe et al. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 1092 (2010)
- 12) L. Pribylova et al. : *Yeast*, **24**, 171 (2007)
- 13) L. Solieri et al. : *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **63**, 364 (2013)
- 14) L. Solieri et al. : *FEMS Yeast Res.*, **13**, 245 (2013)
- 15) J.L. Gordon et al. : *PLoS Genet.*, **5**, e1000485 (2009)
- 16) Sacchetti M : *Arch. Microbiol.*, **3**, 473 (1932)
- 17) Génolevures consortium : *Genome Res.*, **19**, 1696 (2009)
- 18) H. Mori and S. Windisch : *J. Ferment. Technol.*, **60**, 157 (1982)
- 19) J.E. Haber : *Annu. Rev. Genet.*, **32**, 561 (1998)
- 20) T. Srikantha et al. : *Eukaryot Cell*, **2**, 328 (2003)
- 21) J.B. Hicks et al. : *In DNA insertion elements, plasmids and episomes*, 457-462(1977)