

|            |  |
|------------|--|
| 氏名（国籍）     | 安藤進（栃木県）   |
| 学位の種類      | 博士（農学）   |
| 学位記番号      | 農博甲第80号  |
| 学位授与年月日    | 平成8年9月13日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当   |
| 研究科及び専攻    | 連合農学研究科<br>生物資源科学専攻  |
| 研究指導を受けた大学 | 静岡大学   |
| 学位論文題目     | Phylogeny of Ascomycetous Yeasts Deduced<br>from Partial Base Sequences of Ribosomal<br>RNAs |
| 審査委員       | 主査 静岡大学教授 田原康孝<br>副査 岐阜大学教授 河合啓一<br>副査 信州大学教授 寄藤高光<br>副査 静岡大学教授 竹内久直<br>副査 静岡大学教授 岡部満康       |

## 論文の内容の要旨

本研究は、子囊菌酵母 *Kluyveromyces* 属 18 菌株 (12 種、1 変種) および *Saccharomyces* 属 10 菌株 (10 種) について、3 領域の rRNA 部分塩基配列を決定し、これら酵母の系統関係を解明しようとした。塩基配列を決定した領域は、18SrRNA の塩基座位 1451-1618、26SrRNA の塩基座位 493-622、1611-1835 の合計 3 箇所である。その結果、明らかになったことは次の通りである。

*Kluyveromyces* 属の基準種 *K. polysporus* は、本属に分類されている他のどの種とも別属とすべき距離を示した (18SrRNA の塩基座位 1451-1618 の領域で塩基相違数 4 以上)。本種は *Saccharomyces* 属の基準種 *S. cerevisiae* と同じ距離にあったので、本種をもって *Kluyveromyces* 属を立てることは妥当なものと認められる。*K. phaffii* も同様に本属に分類されている他のどの種とも別属とすべき距離を示した。*K. thremotolerans* については本属に分類されている他の各種との距離はやや小さく、本種を独立した属とできるかどうかは本研究の結果のみでは判断できない。また *K. cellobiovorus* は *Kluyveromyces*、*Saccharomyces* のいずれの種からもかなり遠く離れており、これら両属とは無関係と考えられた。本種のユビキノンを同定したところ、Q-9 であり、*Kluyveromyces*、*Saccharomyces* の両属が Q-6 を有するのと異なっていた。本属に分類されている他の多くの種は、*S. cerevisiae* と同一または近い塩基配列を示し、

Saccharomyces属に分類されるべきものと考えられる。

Saccharomyces属のなかでS. servazzii、S. unisporusの2種は3箇所の部分塩基配列のいずれにおいても同一または非常に近い配列を示した。また両種は本属基準種S. cerevisiaeとは明らかに別属とするに足る距離を示した(18SrRNAの塩基座位1451-11618の領域で塩基相違数4)。S. kluyveriは長鎖脂肪酸組成、電気泳動核型などで他のSaccharomycesに分類されている他の各種とは顕著に異なるため、rRNA部分塩基配列も大きく異なるものと予測していたが、結果はS. cerevisiaeなどとの距離は18SrRNAの塩基座位1451-1618の領域でみる限りさほど大きくない(塩基相違数2)。しかしながら、この領域はきわめて保存性の高い領域であり、塩基配列の一致は必ずしも近縁関係を意味するとは言えず、本研究の結果からでは本種の系統上の位置については結論は下し難い。より多くの塩基配列データが待たれる。S. bayanus、S. paradoxus、S. pastorianusの3種はどの部分塩基配列からみても、S. cerevisiaeにきわめて近いと考えられる。S. exiguus、S. dairensisなどは領域により異なる結果を示した。

Kluyveromyces、Saccharomycesの両属はいずれも強い発酵性をもち、ユビキノンQ-6を有すること、栄養細胞が主に2倍体存在することなど、いくつかの重要な共通性が見られる。一方、両属の間には顕著な相違もある。子嚢の開裂がKluyveromycesでは成熟後速やかに起きるのに対し、Saccharomycesでは開裂するのが遅く、また子嚢胞子の数もKluyveromycesでは16個あるいはそれ以上となるのが多いのに対して、Saccharomycesでは4個以内である。このように両属は、重要な共通点と相違点を持ち、また各々の属のなかでも多様である。このような事情から、古来、両属の間の系統関係については様々に見解が分かれていたが、本研究の結果は、両属の分類が再検討されなければならないことを示すものである。

本研究で得られたrRNA部分塩基配列から推定した系統関係を表現形質と照合してみると、いくつかの興味深い事実が見い出される。K. polysporusは70個以上にも達するきわめて多数の子嚢胞子を形成し、また液体培地で皮膜を作る点で、供試した他のどの種とも異なる。またS. servazzii、S. unisporusはわずか2、3のきわめて限られた炭素化合物の資化性しかもたず、高いシクロヘキシミジン耐性をもつ点で特異である。これらの事実とリボソームRNA部分塩基配列、特に18SrRNAの1451-1618の領域からみた系統関係は見事に対応しており、上記の3種は系統上特異な位置を占めるものと思われる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、子嚢菌酵母Kluyveromyces属18菌株(12種、1変種)およびSaccharomyces属10菌株(10種)について、3領域のrRNA部分塩基配列(18SrRNAの塩基座位1451-1618、26SrRNAの塩基座位493-622と1611-1835)を決定し、これら酵母の系統関係を明らかにしようとしたものである。

(1) Kluyveromyces属の基準種K. polysporusは、本属に分類されている他

のどの種とも別属とすべき距離を示し、Saccharomyces属の基準種S. cerevisiaeとも遠い距離にあったことから、本種をもってKluyveromyces属を立てることは妥当であると認められた。K. phaffiiは本属に分類されている他のどの種とも別属とすべき距離を示した。K. cellobiovorusはKluyveromyces、Saccharomycesのいずれの種からもかなり遠く離れており、これら両属とは無関係と考えられた。本属に分類されている他の多くの種は、S. cerevisiaeと同一または近い塩基配列を示し、Saccharomyces属に分類されるべきものと考えられた。

(2) Saccharomyces属のなかでS. servazzii、S. unisporusの2種は3箇所の部分塩基配列のいずれにおいても同一または非常に近い配列を有し、両種は本属の基準種S. cerevisiaeとは明らかに別種とするに足る距離を示した。S. kluyveriは長鎖脂肪酸組成、電気泳動核型などで他のSaccharomycesに分類されている他の各種とは顕著に異なるが、18SrRNA部分塩基配列でみる限りS. cerevisiaeなどとの距離はさほど大きくなかった。S. bayanus、S. paradoxus、S. pastorianusの3種はどの部分塩基配列からみても、S. cerevisiaeにきわめて近いと考えられた。S. exiguus、S. dairensisなどは領域により異なる結果を示した。

(3) Kluyveromyces、Saccharomycesの両属はいずれも強い発酵性を持ち、ユビキノンQ-6を有すること、栄養細胞が主に2倍体存在することなど、いくつかの重要な共通性がみられるが、両属には相違もある。子嚢の開裂がKluyveromycesでは成熟後速やか起きるのに対して、Saccharomycesでは開裂するのが遅く、また子嚢胞子の数もKluyveromycesでは16個あるいはそれ以上となるのが多いのに対して、Saccharomycesでは4個以内である。このように両属は、重要な共通点と相違点を持ち、また各々の属のなかでも多様である。このような事情から、両属の間の系統関係については様々に見解が分かれていたが、本研究の結果は両属の分類が再検討されなければならないことを示すものであった。

以上のように本論文の内容は、リボゾームRNA部分塩基配列に基づく子嚢菌酵母Kluyveromyces属とSaccharomyces属の系統関係に関して新しい貴重な知見を与えるものであり、酵母の系統分類学や分子系統学の進展に大いに寄与するものと評価された。

本審査委員会は論文の構成、内容ならびに基礎となる学術論文等について慎重に審議し、審査委員全員一致をもって本論文が博士の学位を授与されるに値すると判定した。