

コムギミトコンドリアゲノムの構造と遺伝子発現解析

(応用生物学分野) 若松 裕徳

< 緒言 >

植物のミトコンドリアゲノムは、そのサイズが巨大で構造が複雑であるため、その全構造解析が遅れている。現在までに解析が完了した植物体は、ゲノムサイズが最小クラスであるゼニゴケと核ゲノムの全遺伝子情報が解明された双子葉植物のシロイヌナズナのみである。また、ミトコンドリア遺伝子の発現制御に関する研究もほとんど進んでいない。本研究では、単子葉植物で初めての例となるパンコムギのミトコンドリアゲノムの全構造解析プロジェクト(以後コムギ mtDNA プロジェクト)の一環で、その構造の一部を決定した。また、ミトコンドリア遺伝子の発現制御の全体像をつかむことを目的として、光シグナルと組織分化のミトコンドリア遺伝子発現への影響について、葉緑体の光合成遺伝子と比較しながら検討した。

< 実験方法 >

. 構造解析

パンコムギ (*Triticum aestivum cv. chinesespring*) ゲノムのコスミドクローン(CS-74)の全塩基配列をショットガン法で決定し、この領域に存在する遺伝子を配列解析ソフトで確認した。

. 遺伝子発現解析

6日間25℃定常光下で育てたコムギに、24時間の暗処理を行い、その直後に再び光を2時間与えた植物(LDL)と、再照射を行わず、26時間の暗処理を行った植物(LDD)を用意した。各植物の葉の部分を**基部(B)**(0-4cm)と**中間部(M)**(4-10cm)、**頂部(T)**(10-16cm)に分け、それぞれの部位から全細胞RNAを抽出した。また、LDLは**根(R)**の部分からも全細胞RNAを抽出した。以上の材料を用いて、ノーザンハイブリダイゼーションを行い、合計9種のコムギミトコンドリア遺伝子の発現状況を調べた。プローブにはクローニングされたコムギミトコンドリアDNA断片を用い、ランダムプライマー法で放射能ラベルした。また、葉緑体遺伝子のpsbAについても検討し、ミトコンドリア遺伝子と葉緑体内で機能する遺伝子の発現の違いを比較した。

< 結果と考察 >

. CS-74の構造解析

リダダンシー8のショットガンシーケンスの結果、34458bpの配列を決定した。この領域には、9種の遺伝子(nad6, nad1d, nad5ab, rrn18, rrn5, nad1a, rps4, tRNA-Pro, tRNA-Met)が同定された。

. 遺伝子発現解析

発現量

発現レベルは遺伝子によって大きく異なることがわかった(18SrRNA > atpA > atp6 > cox > nad7a-e > rps7 > mat-r > nad1a=nad1e)。興味深いことに、呼吸鎖のNADH脱水素酵素複合体のサブユニットをコードするnad1aとnad1eの転写産物は検出できなかった。これらは、

トランススプライシングされると考えられているが、両者が共に転写されていないので、nad1 遺伝子がこの条件では、発現していないと結論した。

組織特異的発現

単子葉植物では、葉の基部に近づくほど若い細胞が存在し、頂部に近づくほど成熟した細胞になる。LDD 植物のそれぞれの部位(基部(B)、中間部(M)、頂部(T))での発現状況に注目すると、3 種類の発現パターンに分類された(図 1)。葉緑体の光合成遺伝子である *psbA* は基部から頂部に近づくほど、その発現量が増していた(TypeA)。この結果は、葉緑体の発達に依存して *psbA* の発現が増大したものであると考えられる。ATP 合成酵素複合体のサブユニットをコードする *atpA* では基部で発現量が増していた(TypeB)。リボソーム RNA である 18SrRNA、電子伝達系遺伝子である *cox*、S7 リボソームタンパクをコードする *rps7* でも同様の発現パターンを示した。これは基部に存在する若い細胞では細胞分裂が盛んに行われているため、ミトコンドリアの分裂と形成も盛んに行われているからだと思われる。一方、ATP 合成酵素複合体の前駆体をコードする *atp6* では発現レベルに部位ごとの差が見られなかった(TypeC)。

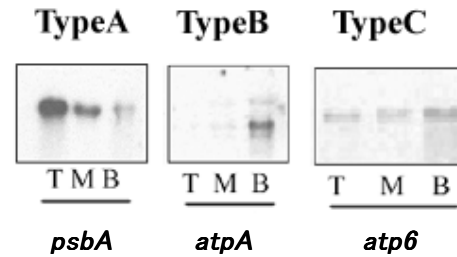


図 1 . 組織特異的発現 (発現パターンの違いにより TypeA , TypeB, TypeC に分類)

次に、LDL の基部(B)と根(R)での発現状況に注目した。ほとんどの遺伝子で根での発現が葉の基部での発現に比べ若干弱い事がわかった。唯一の例外が *rps7* で、発現レベルは低い根での発現量が葉の基部よりも多かった(図 2)。

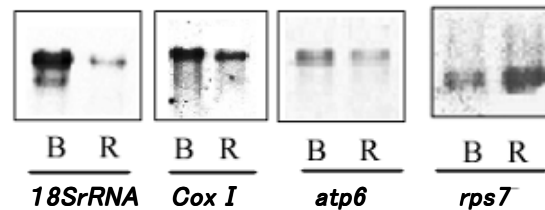


図 2 . 組織特異的発現 (LDL の根(R)と基部(B)を比較)

光応答発現

白色光の影響を LDD 植物の結果と LDL 植物で比べると、*psbA* の発現量は、頂部で明らかに光照射によって活性化されていた。一方、今回調べたミトコンドリア遺伝子では、少なくとも根(R)や基部(B)や中間部(M)においては明らかな光応答を示す結果は得られなかった。ただし *atpA* では、頂部(T)において LDD と LDL 植物の間で発現量にかなりの差が見られたことから、光応答制御の存在が示唆された。ミトコンドリア遺伝子に葉緑体遺伝子と同様に光応答制御が存在していれば、新たな発見となり、非常に興味深い。しかし、今回の結果は、最初に流した RNA 量が完全に一定ではなかったもので、再度定量しなおしてデータを取る必要がある。

< 結論 >

動物細胞のミトコンドリアの遺伝子発現は、単純な制御しか受けないことが知られている。一方、コムギミトコンドリア遺伝子の発現が、細胞の分化シグナルや環境シグナルを受けて遺伝子特異的に制御されていることが本研究で初めて明らかになった。今後さらに研究を続け、この植物ミトコンドリアの遺伝子発現制御の分子機構を解明していきたい。