

卒業論文要旨
タバコ色素体遺伝子の器官別発現解析

(応用生物学研究室) 渡邊亜希子

【序論】

葉緑体はシアノバクテリアが真核細胞に細胞内共生し生じたオルガネラであり、ミトコンドリア同様に独自のゲノムと遺伝子発現系を持つ。葉緑体ゲノムには、光合成と遺伝子発現に関わる100余りの遺伝子がコードされている。高等植物の葉緑体ゲノムの転写には2種類のRNAポリメラーゼが関与する。

1つは核にコードされたバクテリオファージ型RNAポリメラーゼNEP(nuclear-encoded RNA polymerase)、もう1つは細菌型RNAポリメラーゼPEP(plastid-encoded RNA polymerase)である。PEPのコア酵素は、葉緑体ゲノムにコードされた2個の σ サブユニットから構成され、交換可能なプロモーター認識因子であるシグマ因子は核にコードされている。シロイヌナズナには6種類($\sigma 1 \sim 6$)の因子が存在し、最近の分子遺伝学的研究から、因子の使い分けが転写制御において重要な役割を果たしていることが分かってきた。また、NEPにも葉緑体専用のRpoTpとミトコンドリアと共有するRpoTmpの2種類があり、両者にも機能分担が存在する事が指摘されている。

このように、葉緑体では少なくとも8種類の異なったRNAポリメラーゼが働いており、その機能は核による間接・直接的な制御を受けていると考えられる。数少ない遺伝子数でありながら、このように複雑な転写システムを持つことは色素体の相互変換によるものと考えられる。しかし、葉緑体以外の色素体における色素体コード遺伝子の組織的な発現解析は、これまでほとんど行われていない。そこで本研究は、タバコのさまざまな器官ごとに色素体遺伝子の発現解析を行った。

【材料及び方法】

温室で約4週間育てたタバコ(*Nicotiana tobacum* cv. Xanti)の各組織からトータルRNAを抽出し、ノーザンハイブリダイゼーションにより、色素体遺伝子の発現パターンを解析した。

(葉)葉を下から順に第6葉、第10葉、第13葉と根を採取しRNAを抽出した。

(花)開花後すぐの花を採取し、ガク、花弁、柱頭、子房、葯と葯の軸に分けRNAを抽出した。

(種子)開花ごとに刺繍糸を用いてマークし、開花日を0日目として、0日目、5日目、10日目、15日目、20日目、25日目、30日目、35日目、40日目、45日目、50日目を採取しRNAを抽出した。

【結果と考察】

葉の成長過程での発現

葉では光合成遺伝子を中心にほとんどの遺伝子が発現しているが、根ではあまり発現が見られなかった。唯一accDのみが葉と根で変わらず発現していた。これは、シロイヌナズナで得られている結果と同じであり、accDの発現が根で特異的に制御されている事が分かる。葉における

葉緑体遺伝子の発現パターン変化を調べたところ、NEP から転写されるハウスキープ遺伝子と、PEP が転写する光合成遺伝子の多くは、葉の成長過程で一定した発現を見せた。一方、一部の光合成遺伝子 (*psaA*, *psbA*, *psbD*) は葉の成長が進むにつれて発現が増大した。野添は、*sig5* がこれらの光合成反応中心遺伝子 (*psaA*, *psbA*, *psbD*) に特異性を見せることを報告している。葉の成長に伴い *sig5* の発現量の上昇がみられることから、*psaA*, *psbA*, *psbD* の発現上昇は *sig5* に制御されている可能性が考えられる。

花の器官別発現

萼は緑色組織であり葉緑体をもつため、どの遺伝子においても花の他の器官より発現が高く、そのパターンは葉と同様であった。柱頭や花卉、葯軸における葉緑体分化は不十分である。しかし、萼と比較すると低発現であるが、基本的に同じ葉緑体遺伝子の発現が見られた。一方、生殖細胞を分化する葯や子房では、PEP 依存遺伝子の発現は大きく減少していた。NEP 依存遺伝子については、PEP 遺伝子をコードする *rpo* 遺伝子の発現が低いのに対し、*accD* と *clpP* では特異的に強く発現していた。

種子の登熟過程での発現

種子の登熟過程を通じて、PEP により転写される遺伝子 (*rbcL*, *rrn16*, *psaA*, *psbA*) の発現は、おおよそ一定であった。一方、NEP 依存の遺伝子については、遺伝子特異的な複雑な制御を受けている事が分かった。*clpP* はおおよそ一定した発現を示し、*atpB*, *ycf2*, *rpl33-rps18*, *ndhB*, *matK*, *rps16* は 5 ~ 15 日目をピークに発現が落ち 50 日目に再び強い発現を示した。また、*rpoA*, *rpoB* では 5 日と 50 日目に強い発現を見せた。さらに、*accD* は 10 日目に発現のピークを迎え、いったん減少した後再び 25 日目、30 日目に強く発現した。

NEP が認識するプロモーターの構造は 2 つに分類される。タイプ I は転写開始点近傍に YRTA 配列を持つ。もう 1 つのタイプ II プロモーターは、*clpP* 遺伝子に存在するプロモーターで、転写開始点下流の配列が重要である。今回、PEP は一定の発現を見せた。しかし、NEP はおおよそ 4 つのグループに発現パターンを分けることができ、タイプ I プロモーターを持つ *accD* と *rpoB*, タイプ II プロモーターを持つ *clpP* はそれぞれ異なる発現パターンを示した。

accD, *rpoB*, *clpP* はいずれも Florence らにより RPOTp に転写されることが明らかにされている。これは、色素体の NEP による転写がプロモーター特異的転写因子によって制御されている可能性を示唆している。

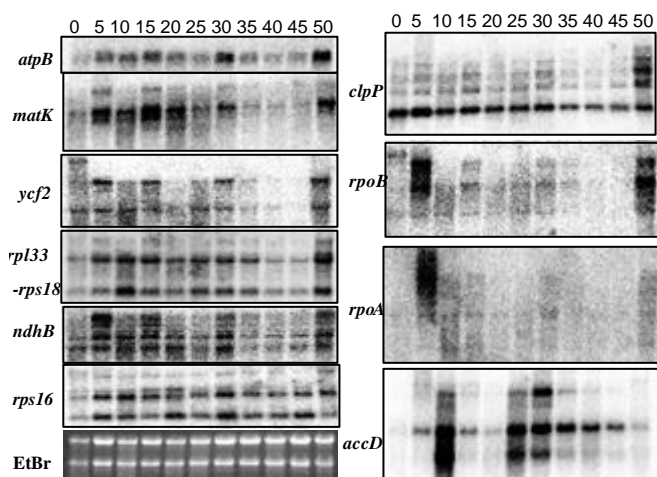


図 1. NEP 依存遺伝子の発現量の比較