

学 位 論 文 題 名

Studies on genome structure and gene content  
in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) mitochondrial DNA

(テンサイミトコンドリアのゲノム構造と遺伝子構成に関する研究)

学位論文内容の要旨

ミトコンドリアは、細胞の活動に不可欠のエネルギー生産を司るオルガネラである。ミトコンドリアの果たす役割は、老化、細胞死等の高次の生命現象にまで及び、高等植物においても種々の形質発現との関連が指摘されている。特に、作物のハイブリッド種子生産に不可欠の細胞質雄性不稔性はミトコンドリアゲノムの突然変異に起因しており、育種学的にもミトコンドリアへの関心は高い。テンサイのように商業品種の全てがハイブリッドで占められるような作物では、ミトコンドリアゲノムの遺伝情報を明らかにすることにより、細胞質育種に貢献できると期待される。

本研究では、テンサイミトコンドリアゲノムに関して、以下の2点の解明を目的に実験を進めた。すなわち、①テンサイミトコンドリアゲノムの塩基配列を全て決定し、これをもとに②ミトコンドリアゲノムにコードされる遺伝子の全容を明らかにすることである。また、モデル植物であるアラビドプシスのミトコンドリアゲノムの全塩基配列が最近発表されたので、異なる植物種間でゲノム規模の比較解析も可能となった。本研究では、被子植物ミトコンドリアゲノムの進化に関する知見も得られた。結果の概要は以下の通りである。

1. テンサイミトコンドリアゲノムの全塩基配列決定

テンサイミトコンドリアクローンバンクを利用して塩基配列の決定を進めた。各クローンの挿入断片を long-PCR で増幅し、部分分解した後にプラスミドベクターに連結してミニライブラリーを作り、ショットガン法により塩基配列を決めた。テンサイミトコンドリアゲノムマスター染色体は 368,799 塩基対より成り、G+C 含量は 43.9%であった。ゲノム上に 29 個のタンパク質コード遺伝子、5 個の rRNA 遺伝子および 25 個の tRNA 遺伝子が見つかった。このような遺伝子コード域はゲノム全体の 11.3%を占め、その他に、イントロン、色素体ゲノム配列、細胞核ゲノム配列、反復配列が見出された。ゲノムの 44.4%はデータベース中の配列と相同性が見られたのに対し、残りの 55.6%については全く相同配列が見つからなかった。

## 2. アラビドプシスミトコンドリアゲノムとの差異

ミトコンドリア遺伝子の構成をアラビドプシスと比較したところ、リボソームタンパク質遺伝子、シトクロム c 生合成関連遺伝子および tRNA 遺伝子の構成に差異が見られ、テンサイにのみ見出される 4 遺伝子 (*rps13*, *ccb577*, *trnF-GAA* および *trnC2-GCA*) と、テンサイから失われている 4 遺伝子 (*ccb228*, *rpl2*, *rpl16* および *trnC1-GCA*) が明らかになった。また、アラビドプシスミトコンドリアゲノムにおいても色素体ゲノム配列や細胞核ゲノム配列が見つかったが、テンサイの配列とは全く異なっており、テンサイとアラビドプシスのミトコンドリアゲノムが、種分化の後、各々独自の進化を遂げたことを物語っている。

## 3. リボソームタンパク質遺伝子の解析

テンサイミトコンドリアゲノムにコードされるリボソームタンパク質遺伝子のうち、未解析の 3 遺伝子 *rps7*, *rps12* および *rpl5* について転写を確認した。またこれら 3 遺伝子においては RNA エディティングが生じている。しかし、*rps12* についてはエディティング頻度が低く、翻訳産物が不均一である可能性が示唆された。

テンサイミトコンドリアゲノムから失われているリボソームタンパク質遺伝子について、細胞核ゲノムへの移行の有無をサザン法で検討した。用いた heterologous プローブはいずれもテンサイ核 DNA と分子雑種を形成することが確認され、ミトコンドリアゲノムからの遺伝子の欠如は細胞核ゲノムへの遺伝子移行により補償されていることが分かった。以上の結果から、テンサイミトコンドリアにおけるリボソームタンパク質遺伝子の構成が明らかになった。

## 4. 機能未同定の ORF の解析

テンサイミトコンドリアゲノムには 100 コドンを越える機能未同定 ORF が 94 個含まれている。このうち 73 個の ORF についてノーザン法により転写産物の有無を調査した。その結果、次の 2 個の ORF についてのみ転写産物を確認した。

*orf214* は普遍的なミトコンドリア遺伝子 *nad5* の第 1、第 2 エキソンと共転写される。しかし、RNA エディティングは起こっておらず、またテンサイ以外に相同配列が見つからないので、機能している可能性は低い。

*orf317* は単独で転写されるが転写産物は短く ORF 全体は転写されていない。またテンサイとハウレンソウ（共にアカザ科）以外では相同配列が見出されず、機能遺伝子であることを示す証拠は得られなかった。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 三 上 哲 夫  
副 査 教 授 島 本 義 也  
副 査 教 授 佐 野 芳 雄

学 位 論 文 題 名

## Studies on genome structure and gene content in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) mitochondrial DNA

(テンサイミトコンドリアのゲノム構造と遺伝子構成に関する研究)

本論文は 126 頁からなる英文論文であり、図 22 と表 11 を含む。別に参考論文 2 編が添えられている。

ミトコンドリアは、細胞の活動に不可欠のエネルギー生産を司るオルガネラであり、植物においても種々の形質発現との関連が指摘されている。特に、作物のハイブリッド種子生産に重要な細胞質雄性不稔性はミトコンドリアゲノムの突然変異に起因しており、育種学的にもミトコンドリアへの関心は高い。テンサイのように商業品種の全てがハイブリッドで占められるような作物では、ミトコンドリアゲノムの遺伝情報を明らかにすることにより、細胞質育種に貢献できると期待される。

本研究の目的は、①テンサイミトコンドリアゲノムの塩基配列を全て決定し、これをもとに②ミトコンドリアゲノムにコードされる遺伝子の全容を明らかにすることである。結果の概要は以下の通りである。

### 1. テンサイミトコンドリアゲノムの全塩基配列

テンサイミトコンドリアクローンバンクを利用して全塩基配列を決定した。これはモデル植物アラビドプシスに続いて 2 例目に当たる。テンサイのミトコンドリアゲノムマスター染色体は 368,799 塩基対より成ることが分った。ゲノム上に 29 個のタンパク質コード遺伝子、5 個の rRNA 遺伝子および 25 個の tRNA 遺伝子が見つかった。このような遺伝子コード域はゲノム全体の 11.3% を占め、その他に、イントロン、色素体ゲノム由来配列、細胞核ゲノム由来配列、反復配列が見出された。ゲノムの 44.4%

はデータベース中の配列と何らかの相同性が見られたのに対し、残りの 55.6%については全く相同配列が見つからなかった。

## 2. アラビドプシスミトコンドリアゲノムとの比較解析

ミトコンドリア遺伝子の構成をアラビドプシスと比較したところ、リボソームタンパク質遺伝子、シトクロム *c* 合成関連遺伝子および tRNA 遺伝子の構成に差異が見られ、テンサイにのみ見出される 4 遺伝子 (*rps13*, *ccb577*, *trnF-GAA* および *trnC2-GCA*) と、テンサイから失われている 4 遺伝子 (*ccb228*, *rpl2*, *rpl16* および *trnC1-GCA*) が明らかになった。また、色素体ゲノムや細胞核ゲノムに由来する配列についても、テンサイとアラビドプシスは全く異なっており、両植物のミトコンドリアゲノムが、種分化の後、各々独自の進化を遂げたことが示された。

## 3. リボソームタンパク質遺伝子の解析

テンサイミトコンドリアゲノムにコードされるリボソームタンパク質遺伝子のうち、未解析の 3 遺伝子 *rps7*, *rps12* および *rpl5* について転写を確認した。またこれら 3 遺伝子においては転写後に RNA のエディティングが生じている。しかし、*rps12* についてはエディティングの頻度が低く、翻訳産物が不均一である可能性が示唆された。

テンサイミトコンドリアゲノムから失われているリボソームタンパク質遺伝子について、細胞核ゲノムへの移行の有無を検討した。その結果、ミトコンドリアゲノムからの遺伝子の欠如が細胞核ゲノムへの遺伝子移行により補償されていることが分かった。以上の結果から、テンサイミトコンドリアにおけるリボソームタンパク質機能遺伝子の構成の全容が明らかになった。

本研究はテンサイミトコンドリアゲノムの全構造と遺伝子構成をはじめて明らかにしたものであり、その成果は学術および応用の両面で高く評価できる。

よって審査員一同は、Amy Estiati が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。