

ソラマメ属植物、カラスノエンドウ(*Vicia sativa*)、における rDNA スペーサーの領域の構造

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/33287

ソラマメ属植物、カラスノエンドウ (*Vicia sativa*)、における rDNA スペーサーの領域の構造

矢倉 公隆

rRNA は、タンパク質合成の場である細胞内小器官、リボソームの構成成分の一つである。真核細胞には 4 種の rRNA が存在するが、それらをコードする遺伝子のうち 5S RNA 遺伝子以外は同一 DNA (rDNA) 上に、18S-5.8S-25S の順に並び転写単位を構成し、それがスペーサーを介して直列に反復配列をしている。またスペーサー領域には転写の開始、終結あるいは効率などを制御するためのシグナルが存在すると思われる。rRNA はこの rDNA を鋳型として RNA ポリメラーゼ I によって合成されるが、それは細胞増殖等の生長現象と共役して起こると考えられる。

植物における rRNA 遺伝子数は動物それに比べ 1 オーダー多く、核当たり数千コピーにも達する。このことは、植物にはいわば“余分な” rRNA 遺伝子が存在することを示唆するものであり、それらは通常、何らかの機構によって不活性化されており、大量のタンパク質合成が要求される時期など、必要に応じて活性化されるのではないかと考えられる。したがって、植物の rRNA 遺伝子は、コピー数の少ない動物 rRNA 遺伝子とは一部異なる転写制御を受けている可能性があると言えよう。筆者はこれまでに、植物における rRNA の転写制御のメカニズムを明らかにすることを目的に、主にソラマメを材料に rDNA の構造解析を行ってきた。その中で、ソラマメ (*Vicia faba*) の rDNA スペーサーの長さには著しい多様性があり、それがスペーサー内に存在している 325 bp (base pairs: 塩基対) の長さの反復配列 (サブリピート) の反復数に起因していることを、クローン化した長さの違ういくつかのスペーサー断片 (VER1, 6, 14, 15, 16) の解析で明らかにしている (図 1)。この 325 bp のサブリピートはさらに、相同性 (ホモロジー) のある 2 つの部分から構成されていることがわかった。これら前半部と後半部を並べて比較したものが図 2 である。このようなスペーサー内の特徴的なサブリピートは、rRNA の転写制御に何らかの形で関与していると考えられる。もしそうだとすれば、進化の速度が速いとされる rDNA のスペーサー内にあっても、このような配列は近縁の種に保存されていると思われるので、金沢市近郊で採集した、ソラマメと同属 (*Vicia*) で野生種の数種において、この 325 bp サブリピートとホモロジーのある配列が存在するかを、ゲノミック・サザンによって検討した結果、カラスノエンドウ

(*Vicia sativa*) の rDNA スペーサーにも存在していることが明らかになった。

そこで本研究では、その配列がどの程度の範囲にわたって、どの程度のホモロジーがあるか、さらに、カラスノエンドウ rDNA スペーサー内でどのような存在様式をとっているのかを知るため、スペーサーの全領域を含む 4.0 kb (kilo base pairs: 千塩基対) の EcoRI断片をクローン化し、その塩基配列を決めた。その結果、カラスノエンドウ rDNA スペーサーの長さは 2470 bp であり、その中には5種類のサブリピート (I, II, III, IV) が存在することがわかった (図3)。ソラマメの 325 bp のサブリピートとホモロジーのある配列は、この内のサブリピート II の中に組み込まれており、したがって、カラスノエンドウ rDNA スペーサーにおいても反復配列として存在していることが明らかとなった。サブリピート II は、4回の繰り返しであり、その内3つ (II-1, II-2, II-3) は隣接して配列し、残る一つ (II-4) は、タイプ I の1つ (I-2) をはさんで存在していた。図4は、II-1~II-4 を並べて比較したものであるが、II-2, II-3 は、173 bp の長さがあるのに対して、II-1 は最初の 16 bp、II-4 は44 bpの欠落があった。ソラマメの 325 bp サブリピートとホモロジーを有するのは、網掛けした約 130 bp の領域であり、ソラマメにおいては、図2の網掛けの部分に相当する。これらの領域を比較すると、約82% と高いホモロジーを示し、よく保存されていることがわかった (図5)。ソラマメとカラスノエンドウは、上記のサブリピート以外に、それぞれ4種類のサブリピートをもっているが、両種間でそれらを比較したが有意な相同性は見出されなかった。

現在まで報告されている植物 rDNA のスペーサー領域には、サブリピートが存在することがわかっているが、それらは種間で相同性が殆ど見られず、またその機能に関しても不明である。しかし、本研究で解析したカラスノエンドウとその近縁種であるソラマメ rDNA には保存性の高いサブリピートが存在していた。このことは、それらのサブリピートが何らかの (おそらく転写の制御に関する) 機能を持った配列であるということを強く示唆するものである。しかし、これらのサブリピートの転写制御に対する機能を明らかにするためには、試験管内での RNA ポリメラーゼ I の転写系を確立し、これらのスペーサーのクローンを使った解析をする必要がある。

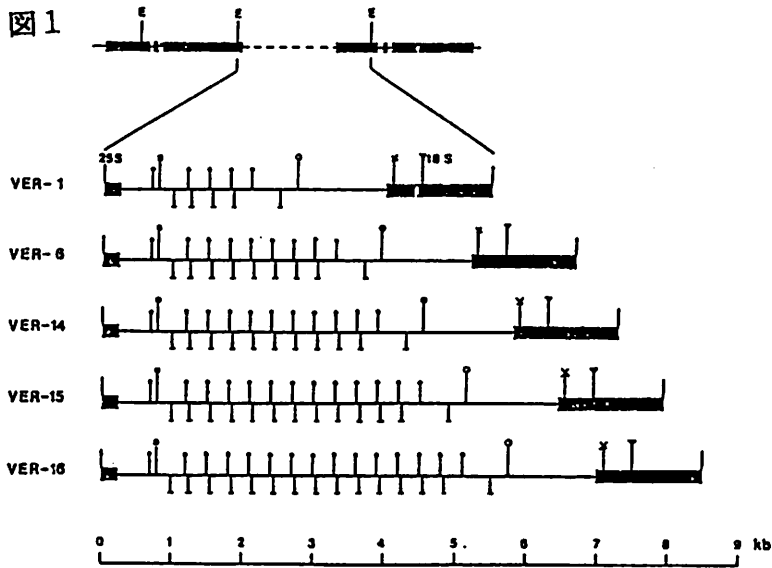
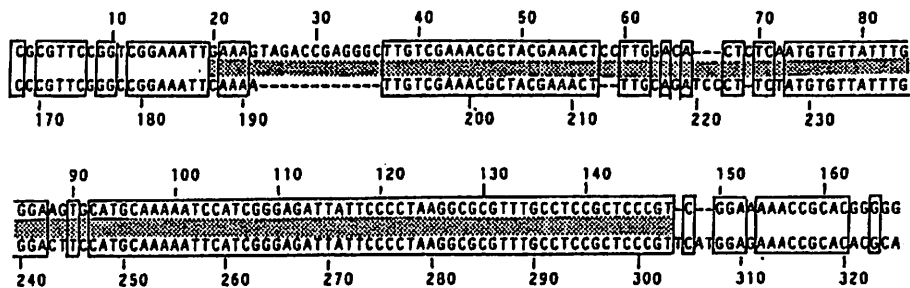


図2

V. fava 325 bp subrepeat



塩基が一致するところを枠で囲っている

図3

V. sativa カラスノエンドウ rDNA スペーサー領域

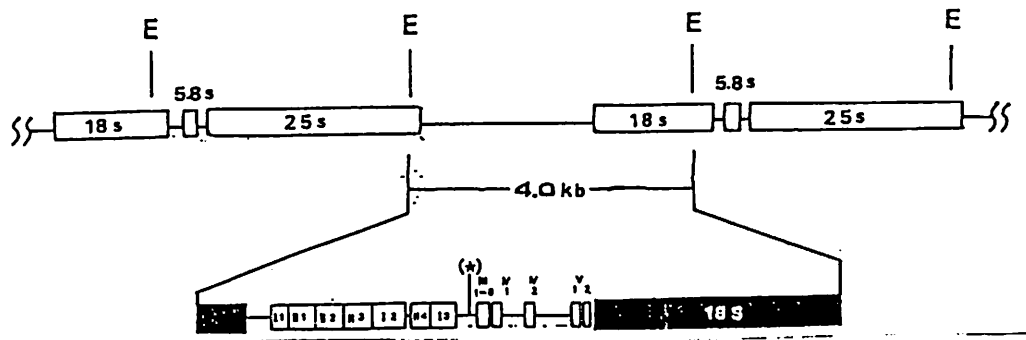
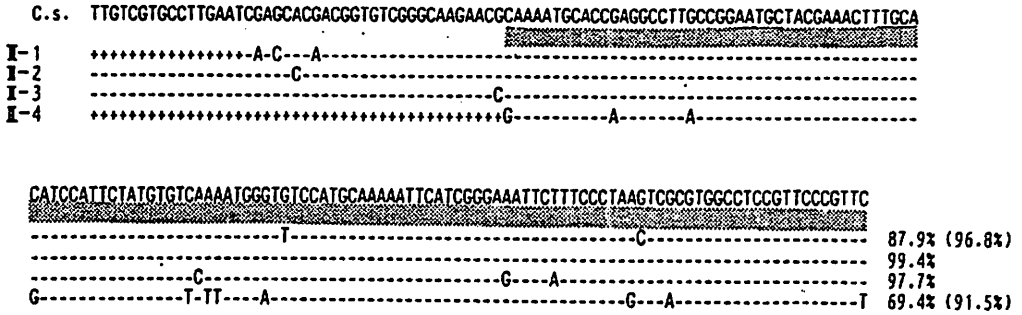


図 4

SUBREPEAT I OF V. SATIVA rDNA



C.s. コンセンサス配列
 + 塩基の欠落
 - 塩基の一致
 数字は、コンセンサスとの塩基の一致率（かっこ内は欠落部を除いたとき）を示す。

図 5

COMPARISON OF rDNA SUBREPEAT SEQUENCES BETWEEN V.FABA AND V.SATIVA



塩基が一致するところを枠で囲っている