雄性不稔遺伝子と稔性回復遺伝子

三上哲夫*

1970年6月、メキシコ湾に臨むフロリダ、アラバマ、ミシシッピ州のトウモロコシ畑を胡麻葉枯病が襲った。被害を受けたトウモロコシはすべて Texas 型細胞質雄性不稔を利用したハイブリッド品種であった。病原菌の胞子はまたたく間に合衆国を北上し、さらにはカナダにまで深刻な被害が及んだ。一時代を画した Texas 型細胞質の育種利用はこうして劇的な破局を迎えたが、同時にこの出来事を契機にして雄性不稔性の研究が急速に活発化したのも事実である。それから20年を経た現在、雄性不稔性のメカニズムはどこまで解明されたのであろうか？

植物は遺伝情報を、核、ミトコンドリアおよび葉緑体の3種のゲノムに分散してコードしている点で特徴的である。このうち、細胞質オルガネラゲノムについての分子生物学的研究は、1980年代に飛躍的に進展した。特に葉緑体については、日本のグループによって、タバコ、イネ、ゼニゴケの3ゲノムの全一次構造が決定され、分類学的にかなり縁の遠いこれらの生物種間で遺伝子の構成や分子構造が高度に保存されていることが証明された⁽¹⁾。これに対して、ミトコンドリアゲノムの解析は当初立ち遅れていたが、育種的に利用価値の高い細胞質雄性不稔性のミトコンドリアゲノムコードが明らかになるに及んで、大きな関心を集めることとなった。

通常、核ゲノムは倍数性レベルが低く、その遺伝様式は二親性であるのに対し、ミトコンドリア・葉緑体両ゲノムはともに高次倍数性で母性遺伝を示す場合が多い。そのため、オルガネラゲノムは核ゲノムとは異なる変異機構や進化の戦略を備えていると考えられる。しかし一方、オルガネラ遺伝子の産物の大部分は、核遺伝子産物とのアッセンブリーなしには機能を発揮し得ないのも事実である。たとえばミトコンドリアの F_1 - F_0 ATP 合成酵素複合体は少なくとも9種のサブユニットから成るが、そのうちミトコンドリア遺伝子によってコードされるのはわずか3サブユニッ

ト (α , 6および9) に過ぎず、他は核にコードされる⁽²⁾。本稿でとり上げる細胞質雄性不稔性の発現制御の問題は、こうしたゲノム間相互作用を研究する上で最も興味深い系の一つといえる。

細胞質雄性不稔と育種

遺伝子型の異なる系統間で掛合せを行なってヘテロ接合体 (F_1) を作ると、親植物の組合せ方次第では F_1 雑種が両親を凌ぐ生育力や繁殖力を示すことがある。この現象はヘテロシス (雑種強勢) と呼ばれ、トウモロコシをはじめテンサイ、ソルガム、タマネギなどのハイブリッド育種に広く利用されてきた。実用的な規模で F_1 雑種を得るには、ヘテロシス効果の大きい両親組合せを選定したうえで、多数の母株 (種子親) の雄しべを取り除き (除雄) 自家受精を防がなければならない。実際問題として、人手による除雄はきわめて負担の大きな作業となる。たとえば、イネでは1個の花に1粒の種子しか稔らない。仮に1人の人間が1日400花ずつ除雄し毎日交配を続けたとして、10アールの水田に必要なハイブリッドの種もみを生産するには1年の歳月がかかるという。つまり、ハイブリッド品種を産業的に成り立たせるには、母株を遺伝的に雄性不稔 (花粉不稔) にしておいて、安価なハイブリッド種子を大量に生産することが必要条件である。

雄性不稔はその遺伝様式の違いから、①核遺伝子のみの作用によるもの、②細胞質遺伝子のみの作用によるもの、③細胞質遺伝子と核遺伝子との

Male Sterility Gene and Fertility Restoring Gene in Higher Plants

* Tetsuo MIKAMI, 北海道大学農学部

図 1 ■細胞質雄性不稔の遺伝

配偶体型雄性不稔(左)と胞子体型雄性不稔(右)を示す。内円:核ゲノム, 外円:細胞質ゲノム, *Rf*: 優性の稔性回復遺伝子, *rfrf*: 劣性の稔性回復遺伝子, %: 花粉稔性, —①—: 分離比

相互作用に起因するものの3種に大別される。普通、ヘテロシス育種に利用されるのは、③の型の雄性不稔であり、一般に細胞質雄性不稔性と呼ばれている。都合のよいことに、細胞質雄性不稔性は高等植物に広汎に見いだされており、Fragosoら⁽³⁾によればその報告例は140種(species)を超えるという。

稔性回復核遺伝子の遺伝

雄性不稔性を引き起こす細胞質ゲノムを雄性不稔細胞質(S)と呼び、S細胞質の作用を抑制して健全な花粉の生産をもたらす核遺伝子を稔性回復遺伝子(fertility restoring gene, *Rf*)という。図1はS細胞質と1対の稔性回復遺伝子との相互作用の結果、花粉不稔が発現する遺伝機構を模式的に示したものである。細胞質型がSで稔性回復遺伝子が劣性ホモの植物((S)*rfrf*)には稔性花粉ができないが、優性の*Rf*が存在すれば花粉稔性が回復する。また、正常型(N)細胞質を持つ

植物は*Rf*の遺伝子型に関係なく受精能を備えた花粉を作る。

たとえば、タマネギにおいては(S)*rfrf*×(N)*RfRf*という掛けせでできたF₁((S)*Rfrf*)の花粉稔性は100%回復する。F₁を自殖して得たF₂では稔と不稔が3:1に分離するから、劣性ホモ化した植物((S)*rfrf*)のみが雄性不稔となることがわかる(胞子体型雄性不稔)。一方、インド型イネのある品種から見つかった雄性不稔細胞質の場合は*Rf*の遺伝子型がヘテロ接合((S)*Rfrf*)になると、その植物の作る花粉の半数は小孢子発育の過程で退化する。これは、親植物から*Rf*アレーレを受け取った花粉のみが正常に発育して受精能を持ち、他方*rf*花粉はS細胞質との相互作用の結果退化してしまうからと理解される。実際、(S)*Rfrf*植物の自殖次代では100%稔性植物と50%稔性植物が1:1に分離する。このような稔性回復核遺伝子の作用は配偶体型と呼ばれる⁽⁴⁾。

表 1 ■ トウモロコシの雄性不稔細胞質と稔性回復核遺伝子の相互作用関係

雄性不稔細胞質	稔性回復核遺伝子	作用機構	座乗染色体
T	<i>Rf1</i> , <i>Rf2</i>	孢子体的	3, 9
C	<i>Rf4</i>	孢子体的	2 または 8
S	<i>Rf3</i>	配偶体的	2

配偶体型作用を示す事例はイネのほかにはトウモロコシで知られている程度で、報告例はきわめて少ない。トウモロコシにおいては正常型細胞質のほかに 40 種以上の由来を異にする雄性不稔細胞質が発見されており、それらは T (Texas) 型, S (USDA) 型および C (Charrua) 型の 3 基本群に分類される (表 1)。T 型細胞質の稔性回復には 2 対の優性補足遺伝子 *Rf1*, *Rf2* が働き、その作用は孢子体的である。*Rf1*, *Rf2* は S 型や C 型不稔細胞質に対しては稔性回復機能を発揮し得ない。他方, S 型不稔細胞質に働く *Rf3* は配偶体的作用を示し, T 型や C 型不稔細胞質との相互作用は見いだされない⁽⁸⁾。このような雄性不稔細胞質と *Rf* 遺伝子との間の特異的な相互作用関係を基に, トウモロコシやテンサイ, イネなどでは不稔細胞質の多型性が明らかになった。こうした不稔細胞質の多型性に関しては, その後ミトコンドリア DNA の制限酵素分析やプラスミド様 DNA 分子種の構成比較を通じて, 分子的基础が与えられた⁽⁵⁾。

ミトコンドリアゲノム

細胞質雄性不稔株 (S 型) と正常株 (N 型) との間で葉緑体 DNA の分子構造はほとんど異ならないが, ミトコンドリアゲノムの構造は著しく相違する場合が多い⁽⁵⁾。これが細胞質雄性不稔性のミトコンドリアゲノムコードを示唆する有力なデータの 1 つとなっている。

たとえば, テンサイのミトコンドリア DNA を *Hind*III で切断してアガロース電気泳動で分別すると, N 型では少なくとも 35 本, S 型においては 36 本のバンドが観察される。これらのバンドのうち 22 本は N 型, S 型両者に共通するが, それ以外のバンドは細胞質型固有と考えられる。別の制限酵素で分解した場合にも同様のデータが得られるから, N 型と S 型細胞質間ではミトコンドリアゲノムの全体にわたって複雑な再編成が起きているに違いない⁽⁶⁾。筆者らは, 現在テンサイの N 型ミトコンドリア DNA の物理・遺伝子地図をゲノムウォーキングに基づいて作成中である。

S 型ミトコンドリア DNA については先に Brears と Lonsdale⁽⁷⁾ が全長 386 kbp の環状マスター染色体を仮定した地図を報告した。マスター染色体には少なくとも 5 組の反復配列が存在し, これらを介した分子内または分子間組換えが起こるため多様なサブゲノムが産み出されるといふ。S 型の地図と, 筆者らが作成中の N 型地図を

図 2 ■ テンサイ正常型 (N) と S 型雄性不稔ミトコンドリア DNA における遺伝子配置の比較
N・S 両ゲノム間では複雑な再編成が起きている。矢印は遺伝子の転写の方向を示す (久保, 三上, 木下: 未発表)。

図 3 ■ テンサイミトコンドリアにおける遺伝子の構成

A: *cox I*, *cox II* の構成 (N型). *cox II* はイントロン (太線) を含む. B: *Bam*HI, E: *Eco*RI, H: *Hind* III, S: *Sal*I, X: *Xho*I. B: *Ncox II* (N型ゲノム由来), *Scox II-1* (S型ゲノム), *Scox II-2* (S型ゲノム) の構成. 3 種の *cox II* 遺伝子間で塩基配列の相同性の失われるエンドポイント (組換えサイト) を垂直矢印で示す.

一部比較してみたのが図 2 である. 多数の変異サイトがゲノム全体に散在しているのが理解できる. もちろん, こうしたゲノム再編成は植物ミトコンドリアの進化の産物であり, その大部分が雄性不稔性の発現と関係のないことは想像に難くない⁽⁸⁾.

テンサイのミトコンドリア遺伝子突然変異

筆者らはテンサイの細胞質雄性不稔性の分子機構を解明するために, N型とS型のミトコンドリアゲノム間で遺伝子の構成や分子構造ならびに発現に関する比較解析を進めている. これまでに *cox II* (シトクロム酸化酵素サブユニット II), *atp A* (ATP 合成酵素サブユニット α), *atp 6* (ATP 合成酵素サブユニット 6) の 3 遺伝子の分子構造と転写パターンが両ゲノムの間で異なることがわかった.

N型ミトコンドリア DNA においては *cox I* (シトクロム酸化酵素サブユニット I) と *cox II* の 2 種の遺伝子が 1.5 kbp のスペーサー域を介して同一鎖上に直列にコードされている⁽⁹⁾. サザンハイブリダイゼーション実験によれば, 両遺伝

子はともに単一コピーのようである. これに対して, S型からは *cox II* の相同配列を含むミトコンドリア DNA クローンが 2 種類 (*Scox II-1*, *Scox II-2*) 得られた (図 3). 塩基配列分析の結果, *Scox II-1* および *Scox II-2* は N型の *cox II* (*Ncox II*) と較べて開始コドンの 50 bp 上流から 5' 側の塩基配列が相同性をまったく失ってしまうことが明らかとなった⁽⁹⁾ (図 3). エンドウの *cox II* 転写物の 5' 端は開始コドンの上流 285 bp または 302 bp に対応すると報告されているから, テンサイの *Ncox II* と *Scox II-1*, *Scox II-2* は互いに転写調節域の塩基配列を異にするとみなされる. 事実, *Ncox II* のメッセージは 1.3 kb であるのに対して S型ミトコンドリアからは 1.6 kb のメジャー転写物と 2 種のマイナー産物 (1.4, 1.1 kb) が得られた (図 4)⁽⁹⁾.

一方, *Scox II-2* においてはコード域内に組換えが起こり, その結果, ORF が 3' 側に 101 コドン分伸長していることも明らかになった (図 3). *Scox II-1* は 1 kbp の逆位反復配列に隣接する⁽⁷⁾. また N型ミトコンドリアゲノム中には *cox II* 5'

図 4 ■ テンサイ
cox II 遺伝子の
ノーザンブロット
分析

NcoxII 5' エキソン (図 3 参照) をプローブに用いた.

上流域の 60 bp にわたる 配列が 反復 している。
cox II 遺伝子に見いだされた構造変異は、あるいは
こうした反復配列を介した組換えの産物なのかも
知れない。*atp A* や *atp 6* 遺伝子の変異も含め
て、このようなゲノム再編成と細胞質雄性不稔性
との関連を調査中である。

ペチュニアの *S-pcf* 遺伝子

テンサイの *cox II* 遺伝子の事例にみられるように、雄性不稔植物のミトコンドリアゲノムからはしばしばキメラ遺伝子や欠損遺伝子が見つかる。これらの遺伝子は長い進化の過程でミトコン

ドリアゲノムに生じた再編成の産物に違いない。
以下に、ペチュニアとトウモロコシの例をとり上
げて考察を加えてみたい。

ペチュニアの正常株と細胞質雄性不稔株との間で体細胞雑種を作ってそのミトコンドリア DNA を調べることにより、雄性不稔性を示す雑種には常に存在し、正常型株では失われる特定の *Bgl* II 断片が同定された。この断片の塩基配列を決定した結果、図 5 に示すような融合遺伝子が見いだされ、*S-pcf* (petunia CMS-associated fused) と名づけられた⁽⁸⁾。興味深いことに *S-pcf* は *atp 9* (ATP 合成酵素サブユニット 9) 遺伝子の 5' 隣接域と 5' コード域、*cox II* 遺伝子の一部コード域ならびに機能不明の読み取り枠 (*urf S*) の融合産物であった。

ペチュニアの細胞質雄性不稔株はミトコンドリアゲノムの別の領域に *intact* な *atp 9* 遺伝子と *cox II* 遺伝子を保有し、両遺伝子はミトコンドリア内で発現している。*intact* な *cox II* 遺伝子はイントロンを含むが、*S-pcf* の *cox II* 相同配列中にイントロンは見当らなかった。しかも *S-pcf* においては *cox II* の 5' エキソンと 3' エキソンが読み取り枠をずらすことなしに融合しているという。したがって、*S-pcf* 中の *cox II* 相同配列は mRNA 起源なのかも知れない。*intact* な *atp 9* と *cox II* 遺伝子は短い相同配列を共有するので、この配列を使って *cox II* メッセージの逆転写産物と *atp 9* 配列との組換えが生じ、*S-pcf* が産み出されたというシナリオを描くこともできる。ただ *urf 5* の起源は明らかでない⁽⁸⁾。

図 5 ■ ペチュニア *S-pcf* 遺伝子の構造

atp9, *coxII* との相同域を示す. コード域内の数字はコドン数.

S1 スクレアーゼプロテクション分析を通じて *S-pcf* に相補的な 3 種の転写産物が同定され⁽⁸⁾, 最も短い転写産物の合成量が葯組織において著しく多い(葉の 4~5 倍)ことが判明した。

トウモロコシの *T-urf 13* 遺伝子

かつてアメリカ合衆国のトウモロコシ品種は T 型細胞質雄性不稔性を利用した一代雑種が多数を占めていた。ところが 1970 年に胡麻葉枯病の大発生をみ、トウモロコシ生産が壊滅的打撃を被ったことは今なお記憶に新しい。この病害は病原糸状菌 *Cochliobolus heterostrophus* (*Helminthosporium maydis*) の T レースによって引き起こされ、T 型細胞質を保有する植物のみが特異的に罹病する。T 型不稔株のミトコンドリアでは正

常株や他の雄性不稔型トウモロコシにはみられない 13 kDa のタンパク質が作られる。13 kDa タンパク質は、T レース菌産生毒素や花粉発育時に合成される葯特異的物質(仮想物質)がミトコンドリア内膜に結合するのを助け、その結果、膜を介して進む酸化的リン酸化の共役反応の障害がもたらされ、花粉不稔と胡麻葉枯病感受性が発現するというのが Forde と Leaver の仮説⁽¹⁰⁾である。

Dewey ら⁽¹¹⁾は T 型不稔と正常型の芽生からミトコンドリア RNA を調製し ³²P で標識した上で、T 型ミトコンドリア DNA ライブラリーとのハイブリダイゼーションを行なった。このディフュゼンシャルスクリーニングを通じて 13 kDa タンパク質のコード配列を含むクローンが同定された。図 6 に示すように、4.6 kbp 直列反復配列の一方の近傍に分子量 12,961 および 24,675 のポリペプチドをコードし得る 2 個の読み取り枠(ORF 13, ORF 25)が近接して存在する。ORF 25 は正

図 6 ■ トウモロコシ *T-urf 13* の構造

A: 4.6 kbp 反復配列の一方は *atp6* 遺伝子と、他方は *T-urf 13* 遺伝子と密接に連鎖する。B: *T-urf 13* は 26S rRNA 遺伝子 (*rrn26*) と *atp6* 遺伝子との組換え産物であることがわかる。*urf 25* 遺伝子は T 型のみならず N 型トウモロコシにも保存されている。

常型と T 型不稔のいずれのミトコンドリア転写産物とも分子雑種を形成し、加えて S 型や C 型不稔トウモロコシ、タバコ、イネ、コムギにも相同域が保存されているから、高等植物に普遍的なミトコンドリア遺伝子と想像される。これに対して、ORF 13 (*T-urf 13*) は T 型ミトコンドリア由来の mRNA としかハイブリダイズしない。

ORF 13 と ORF 25 を含む領域は進化の過程で組換えが少なくとも 7 回繰り返されてでき上がった配列のようである。図 6 から明らかなように 4.6 kbp 直列反復配列の一方は *atp6* に近く、反復配列の末端と *atp6* の開始コドンは 444 bp しか離れていない。さらに ORF 13 の開始コドンからわずか 69 bp 上流にもう一方の 4.6 kbp 反復配列の末端が位置しているので、ORF 13 と *atp6* は上流の塩基配列を共有することになる。キメラ遺伝子の 5' 隣接域がゲノム内に反復して存在するのはペチュニアでも共通しており(図

図 7 ■ ペチュニア *S-pcf* 遺伝子の転写産物

S-pcf 転写物の 5' 端が 3 箇所マッピングされたが、これらはいずれも *atp9* 転写物（細胞質雄性不稔株由来）の場合と同様であった。検出されたものの中では -121 を 5' 端とする産物の量が最も多い。なお、正常型ペチュニアには *S-pcf* 座が存在せず *nad3/rps12* メッセージは -500 と -200 に 5' 端を持つ。

5), 反復配列を介した組換えがキメラ遺伝子の成立に関わったことを示唆する。なお, ORF 13 のコード域は, ミトコンドリア 26 S リボソーム RNA 遺伝子 (*rrn26*) のコード域および 3' 隣接域と相同性が高い。塩基配列から推定されたアミノ酸配列をもとに合成したオリゴペプチドの抗体を用いて, ORF 13 が 13 kDa タンパク質のコード遺伝子であることが免疫学的にも立証され, ORF 13 に対して *T-urf13* という遺伝子記号が与えられた。

稔性回復核遺伝子の機能

では, *Rf* 遺伝子はどのような機構を介してミトコンドリアの雄性不稔遺伝子の作用を抑制（または補足）し花粉稔性の回復に働くのであろうか。残念ながらこの間に満足のゆく解答を与えることはできない。最大の原因は言うまでもなく *Rf* 遺伝子が未だにクローン化されていない点にある。

ペチュニアの細胞質雄性不稔株に由来する *S-pcf* 遺伝子の転写開始点を調べるため、葉、培養

細胞、葯ならびに子房から RNA を調製し, S1 スクレアーゼプロテクション分析を行なったところ, 5' 末端の異なる 3 種の転写産物が検出された（図 7）。ペチュニアの細胞質雄性不稔性においては優性に働く 1 対の稔性回復核遺伝子 (*Rf*) の存在が知られている。Hanson ら⁽⁸⁾によれば *S-pcf* 転写産物の構成は *Rf* の有無にはまったく影響されないようである。これはトウモロコシの *T-urf13* と *Rf1*, *Rf2* 遺伝子との相互作用系の事例と著しく異なる⁽¹²⁾。すなわち, *T-urf13* を含む領域に関しては S1 スクレアーゼプロテクション分析や *in vitro* キャッピングに基づき転写開始点または複数のプロセッシングサイトがマッピングされたが、興味深いことに *Rf1* 遺伝子を持つ稔性回復植物では *T-urf13* の開始コドンの 14 bp 下流サイトを 5' 端とする 1.6 kb 転写物が得られた（図 8）。この転写物はもちろん *T-urf13* 遺伝子の 5' 端を欠いており, 13 kDa タンパク質産生のメッセージとして機能し得ないはずである。実際 *Rf1* が存在すると 13 kDa タンパク質の産生量はおおよそ 80% も減少するという。したがって, *Rf*

図 8 ■ *T-atp6* と *T-urf13* 遺伝子の転写産物

In vitro キャッピングにより 5' 端を決定した複数の転写物とノーザンブロット分析からサイズを求めた転写物との対応を示す。 *T-urf13* の開始コドン下流 (+14) に 5' 端を持つ転写物は *Rf1* 遺伝子を有する T 型トウモロコシ株でのみ検出される。

I 遺伝子は RNA プロセッシング酵素（あるいは転写制御因子）のコード遺伝子であり、稔性回復株においては *T-urf13* メッセージの崩壊→13 kDa タンパク質の減少→酸化的リン酸化反応阻害の解除→花粉稔性回復，という一連の発現プロセスが存在している可能性も考えられよう。

しかし、*Rf1* 存在下でも 2.0, 1.85, 1.8 kbp の転写物（いずれも *T-urf13* の完全長配列を含む）が、先に述べた 1.6 kbp 転写物とともに生産されており、加えて *Rf1* は *T-urf13* と相同性の高い 26 S rRNA 遺伝子の転写に対し何の影響も及ぼさないようである。*Rf1* はむしろ *T-urf13* の翻訳調節に大きな役割を演じているとみるのが妥当なのかも知れない⁽¹²⁾。一方、T 型細胞質雄性不稔の稔性回復には *Rf1* に加え *Rf2* 遺伝子の存在が不可欠であるにもかかわらず、*Rf2* は *T-urf13* の転写、翻訳に何の効果も与えない。あるいは *Rf2* は葯で花粉が形成される時のみ発現する遺伝子なのであろうか⁽²⁾？ *Rf1*, *Rf2* 遺伝子は *T-urf13* 遺伝子の出現以前から存在していたのか否か、またもし存在していたとすれば、*Rf* 遺伝子は *T-urf13* との相互作用系以外にも何らかの役割を担っているのか，という疑問も含めて、

今後に残された興味深い研究課題といえよう。

稔性回復核遺伝子によって誘起されるミトコンドリアゲノム再編成

前項で述べたペチュニアとトウモロコシの *Rf* 遺伝子はミトコンドリアのキメラ遺伝子の転写あるいは翻訳を制御し、稔性の回復をもたらすと考えられる。換言すれば、これらの *Rf* 遺伝子が雄性不稔植物に導入されても、それによってミトコンドリア遺伝子の分子構造そのものが変わることはない。このような *Rf* 遺伝子とミトコンドリア遺伝子との相互作用関係がテンサイやタマネギをはじめ、多くの細胞質雄性不稔性についても共通してみられることは掛合せ実験に基づく遺伝子解析のデータから容易に推測できる。ところが、Mackenzie⁽¹³⁾ によって報告されたインゲンマメの事例はまったく様相が異なっている。

1977 年に、コロンビアの国際熱帯農業センター (CIAT) でインゲンマメ導入系統 G 08063 から 13 個体の雄性不稔株が発見された。この雄性不稔性 (CMS-G 08063) は母性遺伝を示し、Sprite と呼ばれる品種の花粉を交配すると F₁ 植物はすべて雄性不稔となる。その後、CMS-G

図 9 ■ インゲンマメ細胞質雄性不稔における稔性回復の遺伝機構
R-351 に由来する *Fr* 遺伝子(A)と G 08063 起源の *Fr2* 遺伝子(B)の事例を示す。

08063 に対する稔性回復遺伝子が、育種母材として育成された R-351 より見つかった。図 9 にまとめたように、CMS-G 08063 × R-351 の F₁ は半不稔を示し、F₂ では稔性 + 半不稔 : 完全不稔が 3 : 1 の比で分離する。これは 1 対の稔性回復遺伝子 (*Fr* と名づけられた) の関与を仮定することで簡単に説明される。ただ不思議なのは、稔性回復型 F₂ 植物の 2/3 はヘテロ接合型 (*Frfr*) と期待されるにもかかわらず、その自殖次代あるいは (N)*frfr* の Sprite との検定交配の翌代に雄性不稔植物の分離がまったく認められなかった点である。つまり、F₂ で *Fr* による稔性回復が生ずると、それ以降は *Fr* 遺伝子座の分離とは無関係に稔性回復型植物のみが現われることになる。

ミトコンドリア DNA 分析の結果、稔性回復型植物においては CMS-G 08063 と比較して少なくとも 25 kbp にわたる領域の欠失が起きていることが明らかとなった。詳細な構造解析は報告されていないものの、ノーザンブロット分析によれば 25 kbp 領域には転写される配列が含まれる。同様の欠失は細胞質ゲノムの復帰変異に基づく稔性回復型のインゲンマメにおいても生じていた。この欠失領域はミトコンドリアゲノムの他の場所には重複していない。こうしたミトコンドリア DNA 再編成の成因としては分子内または分子間組換えによる特定塩基配列の切り出しの可能性も無論考えなければならないが、インゲンマメの場合はむしろ 25 kbp 配列を含むサブゲノム分子の

自律的複製能が *Fr* 存在下で低下し、細胞から失われると想像されているようである。ミトコンドリアのサブゲノム分子の化学量比が核遺伝子型によって異なることはすでにトウモロコシで報告されており、普遍的な現象に違いない。

インゲンマメの細胞質雄性不稔の興味深い点はこれだけに止まらない。最近 Mackenzie⁽¹⁴⁾ は CMS-G 08063 の由来した原系統 G 08063 が元来雄性不稔細胞

質と稔性回復核遺伝子を有し、しかもその稔性回復機構が R-351 の *Fr* とはまったく相違することを示した。図 9 から明らかなように、G 08063 起源の稔性回復遺伝子 *Fr2* はペチュニアやトウモロコシなど多くの植物における事例と同様ミトコンドリア DNA の分子構造に対しては何の影響も与えない。CMS-G 08063 と G 08063 との間で既述の 25 kbp 領域の転写パターンには差がみられないので、*Fr2* 遺伝子は翻訳調節に与っているのかも知れない。

雄性不稔の分子機構

T 型不稔細胞質を有するトウモロコシの組織培養実験から、稔性を回復し、T レース菌産生毒素に対する抵抗性をも併せて発現する再分化植物が得られた。復帰変異で生じた形質は細胞質遺伝を示す。復帰変異株に関して、これまでに見いだされたミトコンドリア DNA 変異は *T-urf13* 遺伝子座の欠失または同遺伝子のフレームシフト変異であった。このような復帰変異株を用いた分析結果は、*T-urf13* と *Rf* 遺伝子との相互作用に関するデータとともに、*T-urf13* 遺伝子が T 型細胞質雄性不稔の発現に与っている可能性を強く示唆するものと言ってよい。しかし、それにもかかわらず *T-urf13* やペチュニアの *S-pcf* の翻訳産物が花粉の発育障害に直接的に働くという証拠はない。Hanson ら⁽⁸⁾ も指摘しているが、これらのキメラ遺伝子の形成によってまず下流域の *urf25* (T 型

トウモロコシ) や *nad 3* (NADH 脱水素酵素サブユニット 3, ペチュニア) または *rps 12* (リボソームタンパク質小サブユニット 12, ペチュニア) のような, ミトコンドリアの機能維持に必須の遺伝子の発現が妨げられ, 花粉不稔が生ずるのかも知れない。

では, 花粉形成の阻害をもたらすミトコンドリア遺伝子突然変異が他の発育プロセスには何の影響も及ぼさないのは何故なのであろうか? T型不稔トウモロコシの葯を光学顕微鏡や電子顕微鏡を使って細胞・組織学的に詳しく分析した結果によれば, 減数分裂終了後ほどなく葯壁のタペート層のミトコンドリアが崩壊し始め, 続いて花粉退化が起こるようである⁽¹⁴⁾。この崩壊に先立ってタペート層のミトコンドリアの分裂が急激に活発化し, 細胞当たりのミトコンドリア数が 20~40 倍に増加する (雌しべ組織ではミトコンドリア数の急速な増加はみられない) というから, 花粉の正常な発育にはミトコンドリアの高い活性が必要不可欠に違いない⁽¹⁵⁾。したがって, 他の組織の発育プロセスに対しては害作用を及ぼさない程度の軽微のミトコンドリア機能障害が花粉形成過程には決定的な阻害要因として働くということも充分に考えられよう。キメラのミトコンドリア遺伝子を正常型植物へ人為的に導入し, 葯組織における遺

伝子発現を調べる研究が本格的に開始され, さらに *Rf* 遺伝子のクローン化が成功すれば, 雄性不稔性の分子機構の解明に大きな進展がもたらされるものと期待される。

文献

- 1) H. Shimada & M. Sugiura: *Nucl. Acids Res.*, **19**, 983 (1991).
- 2) K. J. Newton: *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **39**, 503 (1988).
- 3) L. L. Frago, S. E. Nichols & C. S. Levings III: *Genome*, **31**, 160 (1989).
- 4) 新城長有: 遺伝, **42**(5), 8 (1988).
- 5) 三上哲夫: 植物細胞工学, **2**, 98 (1990).
- 6) T. Mikami, Y. Kishima, M. Sugiura & T. Kinoshita: *Theor. Appl. Genet.*, **71**, 166 (1985).
- 7) T. Brears & D. M. Lonsdale: *Mol. Gen. Genet.*, **214**, 514 (1988).
- 8) M. R. Hanson, K. D. Pruitt & H. T. Nivison: "Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology," ed. by B. J. Miflin, Vol. 6, 1989, p. 61.
- 9) M. Senda, T. Harada, T. Mikami, M. Sugiura & T. Kinoshita: *Curr. Genet.*, **19**, 175 (1991).
- 10) B. G. Forde & C. J. Leaver: "The Plant Genome," ed. by D. R. Davier and D. A. Hopwood, Norwich, John Innes Charity, 1979, p. 131.
- 11) R. E. Dewey, C. S. Levings III & D. H. Timothy: *Cell*, **44**, 439 (1986).
- 12) J. C. Kennell & D. R. Pring: *Mol. Gen. Genet.*, **216**, 16 (1989).
- 13) S. A. Mackenzie & C. D. Chase: *Plant Cell*, **2**, 905 (1990).
- 14) S. A. Mackenzie: *Genetics*, **127**, 411 (1991).
- 15) C. S. Levings III: *Science*, **250**, 942 (1990).

ユーグレナ研究会第7回研究集会

日時: 1991年11月16日 (土) 午前10時より

会場: 大阪府立大学学術交流会館

(堺市百舌鳥梅町 4 丁 804 ☎ 0722-52-1161)

プログラム:

開会の挨拶・北岡正三郎/シンポジウム I 「β-グルカンとその利用」 パラミロンの特性・宮武和孝 (大阪府大農)/N, N-ジメチルアミノエチルパラミロンによる抗菌活性の誘導とマクロファージの活性化・坂上 宏 (昭和医大)/セルロース資源の利用・荒井基夫 (大阪府大農)
 ポスターセッション *Euglena gracilis* SM-ZK のビルビン酸: NADP⁺ 酸化還元酵素のジアホラーゼ活性ドメインの cDNA クローニング・山地亮一他 (大阪府大農)/進化における RuBisCO 活性調節機構の多様性・東岡雅也他 (大阪府大農)/ユーグレナのセリンヒドロキシメチル転移酵素に対する D-アミノ酸の影響・坂本正子他 (四天王寺国際仏教大)/ユーグレナ NAD⁺ キナーゼ活性の概日リズム・盛徹也他 (帯広畜産大)/クラミドモナス細胞周期の概日時計調節・後藤 健他 (帯広畜産大)/パラミロン粉体の諸性質について・佐藤宗武他 (大阪府大工)/顕微鏡光寿命測定法による *Euglena gracilis* Z の光合成能と環境効果・戸塚和

秀他 (京都工芸繊維大)/ユーグレナ葉緑体の酸素発生系 30 kDa タンパク質前駆体の輸送過程・稲垣純子他 (岡山大理)/緑化過程における *Euglena* プラスチド蛋白質合成の DCMU による促進・椎名 隆他 (京大大学院人間環境)
 シンポジウム II 「細胞内小器官の多様な代謝とその生理的な役割」ユーグレナ細胞の葉緑体形成過程における LHCP II および RuBisCO タンパク質分子の動態・長船哲齊 (東京医大)/ユーグレナの高機能ミトコンドリア・中野長久 (大阪府大農)/Photo- and Nutritional Regulation of Organelle Biogenesis in *Euglena*・Steven D. Schwartzbach (Univ. Nebraska, USA)/高等植物における細胞小器官の動的変動・西村幹夫 (基生研)/高等動物のペルオキシソーム機能・野口知雄 (九州歯大)/閉会の挨拶・北岡正三郎
 懇親会 (学術交流会館ロビー, 会費 3000 円)

参加費: 無料

連絡先: 〒591 堺市百舌鳥梅町 4 丁 804

大阪府立大学農学部栄養化学研究室内

ユーグレナ研究会事務局

☎ 0722-52-1161 内線 2472, 2473