ミニレビュー

[Nippon Nōgeikagaku Kaishi Vol. 71, No. 11, pp. 1180~1182, 1997]

翻訳過程における葉緑体遺伝子の発現制御機構†

廣瀬哲郎, 杉浦昌弘

(名古屋大学遺伝子実験施設)

Key words : chloroplast ; translation ; RNA-RNA interaction ; RNA-protein interaction ; RNA processing

葉緑体には独自の翻訳系が存在し、それに関わる 70 S リボソームや tRNA などの基本翻訳因子は原核生物型であると考えられている⁽¹⁾。しかし以下に述べるように葉緑体には翻訳の基本的なステップにおいてユニークな分子機構が存在することが推測される。また mRNA が蓄積するにも関わらず特定の条件下でのみしか翻訳されない場合もあり、翻訳は葉緑体の遺伝子発現レベルを決定する上で非常に重要である。近年筆者らが開発した葉緑体 *in vitro* 翻訳系や単細胞緑藻クラミドモナスの遺伝学的解析の手法によって、これまで蓄積されていた葉緑体翻訳制御に関する知見からさらにその詳細な分子機構へと新たな展開を迎えようとしている。

1. 翻訳開始制御に関わるシス配列とトランス因子

葉緑体 mRNA の構造を見ると大腸菌の mRNA の構造と異なる構造をもつことが分かる。大腸菌ではほとんどすべての mRNA の開始コドンから 5~9 nt 上流にプリンに富んだシャイン-ダールガーノ配列 (SD 配列) が存在し、この配列と 16 S rRNA の相互作用がリボソームの正確な翻訳開始部位の認識に重要であることが示されている⁽²⁾。一方、葉緑体 mRNA の開始コドン上流には、このような SD 様配列は必ずしも存在しない。筆者らは、タバコ葉緑体ゲノム上に存在する 73 遺伝子転写物中の開始コドン上流 25 nt の配列を検索した結果、約 1/3 の遺伝子転写物には SD 様配列が全く存在しないことを見いだした。このことは、葉緑体にはリボソームが mRNA 上の未知の配列を認識し翻訳を開始

する機構が存在することを示唆している。そこで筆者らは、タバコ葉緑体 *in vitro* 翻訳系を用いて *psbA* mRNA の翻訳開始に必要なシス配列を解析し、5' 非翻訳領域 (5' UTR) 上の 3 種類の配列 (RBS 1, RBS 2, AU-box) を同定した⁽³⁾。このうち RBS 1 と RBS 2 は協調的に 16 S rRNA と相互作用し正確な翻訳開始に貢献しており、さらに AU-box にはタンパク質因子が相互作用し、RBS とは独立に *psbA* mRNA の効率良い翻訳開始を促進していることが示唆された (図 1)。またクラミドモナスの葉緑体形質転換法を用いて *psbA* と *petD* mRNA の 5' UTR に存在する SD 様配列の機能が解析され、*psbA* の翻訳はこの配列に強く依存するものの *petD* の翻訳はこの配列に変異を加えても影響がないことが報告されている^(4,5)。このように葉緑体の翻訳開始は遺伝子特異的な複数の mRNA 配列 (或いは mRNA の二次構造) に依存して行われていることが予想される。またクラミドモナスにおいて特異的な遺伝子転写物の翻訳に影響を与える数多くの核変異体が分離されていることから、複数のシス配列に対応した様々なトランス因子の存在も予想される⁽⁶⁾。

2. 光や発生段階に応答した翻訳制御

葉緑体遺伝子の発現レベルは光条件や発生段階に大

図 1 タバコ葉緑体 *psbA* mRNA の翻訳開始に必要なシス配列とトランス因子

† Translational Control Mechanisms of Chloroplast Gene Expression

Tetsuro HIROSE and Masahiro SUGIURA (Center for Gene Research, Nagoya University)

図2 クラミドモナス葉緑体 *psbA* mRNA の5' 非翻訳領域に結合するタンパク質複合体による翻訳制御機構のモデル

きく依存して変化する。この過程において翻訳段階の制御は非常に重要であることが報告されている。高等植物の *psbA* mRNA の翻訳は、光照射下の葉緑体内で最も活発に行われるが、暗条件下や非光合成器官の色素体では mRNA が蓄積しているのにも関わらず翻訳されることはない。色素体ポリソーム内に含まれる mRNA の解析から *psbA* mRNA は翻訳開始段階と伸長段階で光や発生段階に応じて制御されていることが見いだされた⁽⁷⁻⁹⁾。また *rbcL* の翻訳開始も同様に制御されているという報告もある⁽⁸⁻¹⁰⁾。Danon と Mayfield はクラミドモナスの *psbA* mRNA の5' UTR に特異的に結合するタンパク質複合体を単離し、その RNA 結合性について解析を行った。それによると葉緑体内の ATP と ADP の割合及びチオレドキシンを介した酸化還元状態の変化によってタンパク質複合体の mRNA への結合性が変化し、結果的に *psbA* mRNA の翻訳開始効率を制御しているというモデルを示した(図2)⁽¹¹⁻¹³⁾。このような翻訳制御は、葉緑体内の光合成活性に最も迅速にตอบสนองして D1 タンパク質合成量に反映させる機構として意義深い。高等植物では光などにตอบสนองした *psbA* mRNA の翻訳制御因子に関する報告はまだないが、筆者らが同定した翻訳シス配列の AU-box に結合するタンパク質因子は、その候補である。

3. RNA プロセッシングによる翻訳制御

多くの高等植物葉緑体遺伝子はポリシストロニック mRNA として転写された後、RNA エディティング、RNA スプライシング、RNA 切断など多様な RNA プロセッシングの過程を経て成熟 mRNA が生成される。真核生物の核遺伝子の発現過程でも成熟 mRNA の生成過程で多様な RNA プロセッシングを受けることが知られ

図3 メチルジャスモン酸により誘導されるオオムギ葉緑体 *rbcL* mRNA の5' 非翻訳領域の RNA プロセッシング部位の変化と翻訳制御

ているが、この場合これらの現象は核でのみ起こり、翻訳の場である細胞質とは核膜によって空間的に隔離されている。一方葉緑体の場合、様々な RNA プロセッシングと翻訳は隔壁のない同一の空間で行われるため、RNA プロセッシングが翻訳に影響を与えている可能性が考えられる。このような例がメチルジャスモン酸処理したオオムギ葉緑体の *rbcL* mRNA の翻訳において報告されている⁽¹⁴⁾。オオムギにメチルジャスモン酸を与えると RuBisCO 大サブユニットの合成が著しく阻害される。この翻訳阻害はこの処理によって *rbcL* mRNA の5' UTR に存在する RNA 切断部位が 45 nt 上流にシフトすることにより生じることが明らかになった(図3)。また Barkan らはトウモロコシの *crp 1* 突然変異体において *petB-petD* 前駆体 mRNA 中のスパーサー領域の RNA 切断が起こらないことにより *petD* mRNA の翻訳効率が著しく減少していることを見いだした⁽¹⁵⁾。筆者らも *in vitro* 翻訳系を用いてタバコの *psaC-ndhD* オペロン転写物の RNA プロセッシングが翻訳に与える影響について解析を行い、組織特異的な RNA エディティングが *ndhD* mRNA の翻訳効率を決定する上で重要であること、さらにスパーサー領域の RNA 切断が *psaC*, *ndhD* 双方の mRNA の翻訳に必要であることを見いだした⁽¹⁶⁾。このように葉緑体では RNA プロセッシングと翻訳という二つの転写後の現象が密接に関連していることが明らかになりつつある。

4. 展望

翻訳段階での遺伝子発現制御は、外的また内的条件にいち早くตอบสนองして遺伝子産物の合成量を決定することができる。葉緑体のように光条件に依存したオルガ

ネラでは、光に応答したユニークな情報伝達系と翻訳制御機構が存在することが期待できる。こうした生理学的観点に加え基本的なRNAとタンパク質の相互作用の観点から見ても葉緑体における翻訳開始機構は非常に興味深い側面を持っている。今後の詳細な分子機構の解析により、これまで原核生物や真核生物で見いだされていない新たなRNA-タンパク質またはRNA-RNA相互作用の機構が明らかになることが期待される。こうした詳細な分子機構の解析には *in vitro* 系による生化学的な解析が最も有効である。しかし翻訳はそれ以前のRNAプロセシングやそれ以後の翻訳後段階の現象と密接に関わっており、今後はさらに転写、RNAプロセシング、翻訳、翻訳後の段階を *in vitro* において総合的に解析できるような系の開発が必要である。また葉緑体形質転換法を用いた *in vivo* における解析も併用し研究を進めていく必要がある。

- (1) M. Sugiura : *Plant Mol. biol.*, **18**, 149-168 (1992).
- (2) J. McCarthy, R. Brimacombe : *TIG* **10**, 402-407 (1994).
- (3) T. Hirose, M. Sugiura : *EMBO J.* **15**, 1687-1695 (1996).
- (4) S. P. Y. Mayfield, A. Cohen, A. Danon, C. B.

- Yohn : *J. Cell Biol.*, **127**, 1537-1545 (1994).
- (5) W. Sakamoto, X. Chen, K. L. Kindle, D. B. Stern : *Plant J.*, **6**, 503-512 (1994).
- (6) J. D. Rochaix, M. Kuchka, S. Mayfield, M. Schirmer-Rahire, J. Girard-Bascou, P. Ben-noun : *EMBO J.*, **8**, 1013-1022 (1989).
- (7) R. R. Klein, H. S. Mason, J. E. Mullet : *J. Cell Biol.*, **106**, 289-301 (1988).
- (8) X. W. Deng, W. Gruissem : *EMBO J.*, **7**, 3301-3308 (1988).
- (9) M. Taniguchi, H. Kuroda, K. Satoh : *FEBS Lett.*, **317**, 57-61 (1993).
- (10) J. O. Berry, J. P. Carr, D. F. Klessig : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 4190-4194 (1988).
- (11) A. Danon, S. P. Y. Mayfield : *EMBO J.*, **10**, 3993-4002 (1991).
- (12) A. Danon, S. P. Mayfield : *EMBO J.*, **13**, 2227-2235 (1994).
- (13) A. Danon, S. P. Y. Mayfield : *Science*, **266**, 1717-1719 (1994).
- (14) S. Reinbothe, C. Reinbothe, C. Heintzen, C. Seidenbecher, B. Parthier : *EMBO J.*, **12**, 1505-1512 (1993).
- (15) A. Barkan, M. Walker, M. Nolasco, D. Johnson : *EMBO J.*, **13**, 3170-3181 (1994).
- (16) T. Hirose, M. Sugiura : *EMBO J.* (1997) (印刷中)