

グアノシン 5'-二リン酸 3'-二リン酸 (ppGpp) の 葉緑体遺伝子転写制御に関する研究

バイオマス転換学講座 化学生物学分野
落合 由佳

【背景と目的】 グアノシン 5'-二リン酸 3'-二リン酸 (ppGpp) は、バクテリアにおいて緊縮制御を司るシグナル物質である。この物質はアミノ酸欠乏時に合成され、RNA ポリメラーゼに結合して転写を阻害する。近年 ppGpp は植物にも存在し、葉緑体に局在することが明らかとなった。また、ppGpp 合成酵素 *relA/spoT* homolog (RSH) が高等植物においても確認され、ppGpp の花芽形成に対する影響が示された。ppGpp の植物における役割は未解明であるが、このように植物においても重要な役割を担っていると予想される。そこで本研究は、植物葉緑体遺伝子の転写制御における ppGpp の役割を解明することを目的とした。

【方法】 シロイヌナズナのカルシウム依存性 *RSH* (*At-CRSH*) のタバコ高発現株を作製した。このタバコ *At-CRSH* 高発現株および野生株の葉緑体タンパク質について二次元電気泳動を行い、両者を比較して発現量に変化の見られたタンパク質を MALDI-TOF-MS によって同定した。その結果 *At-CRSH* 高発現株においてルビスコ大サブユニットおよび光化学系 23kDa ポリペプチドの発現量に変化が見られたため、ルビスコ大サブユニットをコードする *rbcL* および光化学系 23kDa ポリペプチドをコードする *psbA* について半定量 PCR 法によりその転写量を *At-CRSH* 高発現株と野生株で比較した。また、葉についてヨウ素デンブンプン反応を行い、デンブンプン量を *At-CRSH* 高発現株と野生株で肉眼により比較した。

（結果） タバコ *At-CRSH* 高発現株を作製したところ、生育初期において生育の阻害が観察された。葉緑体タンパク質の発現量を調べた結果、野生株に比べ *At-CRSH* 高発現株においてルビスコ大サブユニットの発現量増加および光化学系 23kDa ポリペプチドの発現量減少が観察された。さらに *rbcL* 及び *psbA* の転写量を比較した結果、野生株と比べて *At-CRSH* 高発現株で *rbcL* の転写量増加が見られたが、*psbA* について転写量に差は見られなかった。また、葉のデンブンプン量を比較した結果、野生株に比べ *At-CRSH* 高発現株においてデンブンプン量の増加が観察された。

【考察及び結論】 生育初期段階において *At-CRSH* 高発現株の生育阻害が観察されたが、これは植物の生育初期段階では DNA, RNA 及びタンパク質の合成が盛んに行われており、十分に成長した段階に比べ *At-CRSH* 高発現の影響を大きく受けたためと考えられる。また、*At-CRSH* 高発現株におけるルビスコ大サブユニットの発現量増加が確認されたが、*rbcL* 転写量の増加や葉におけるデンブンプン量の増加はこの結果を支持した。ppGpp による葉緑体遺伝子の転写阻害がこれまでの研究で示されているが、今回の結果から ppGpp が *rbcL* 発現を直接的あるいは間接的に上昇させていることが示唆された。