

# ミトコンドリアゲノムと細胞質雄性不稔性

誌名	育種学研究 = Breeding research
ISSN	13447629
著者名	久保,友彦
発行元	日本育種学会
巻/号	8巻3号
掲載ページ	p. 135-141
発行年月	2006年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 特集記事

## ミトコンドリアゲノムと細胞質雄性不稔性

久保友彦

北海道大学大学院農学研究院, 札幌市, 〒060-8589

## Angiosperm mitochondrial genome and cytoplasmic male sterility

Tomohiko Kubo

Graduate School of Agriculture, Hokkaido University, N-9, W-9, Kita-ku, Sapporo 060-8589, Japan

## キーワード

CMS 原因遺伝子, 遺伝子構成, イントロン構成, promiscuous DNA, RNA エディティング, tRNA

## 1. 緒言

細胞質雄性不稔性 (CMS) は、雌性器官や栄養器官に影響を及ぼすことなく、雄性器官に特異的退化をもたらすため、多くの作物種において一代雑種種子生産に不可欠の重要な育種形質である。CMS を利用しない採種システムの構築は、例えばトウモロコシの如く雄花と雌花が独立している作物であれば機械的な除雄により可能であろうが、著者が研究対象としているテンサイ (サトウダイコン) のように、小型の両全花が次から次へと咲き乱れ、自家不和合性に関する解析が実用レベルに達していない作物では相当困難である。実際、現在のテンサイ商業品種の 99% 以上が一代雑種品種で、全てが CMS に依存している。そのため、CMS 発現機構の解明は育種技術開発の上で非常に大きな意義を持つ。

遺伝学的モデルによれば、CMS 発現は核と細胞質の相互作用により決定される。1980 年代に細胞質側の遺伝因子がミトコンドリアにあることが明らかになると、CMS 研究者は被子植物のミトコンドリアゲノムや、そこにコードされるであろう CMS 原因遺伝子に対する関心を高め、盛んに研究を行った。それらの成果をまとめると、被子植物のミトコンドリアゲノムは知られている限り最もサイズの大きなミトコンドリアゲノムで、不均一な DNA 分子種から構成され、植物種間、場合によっては種内で著しい構造多型を示し、CMS 関連遺伝子としてトウモロコシ *wf13-T* やペチュニア *pcf* のようなモザイク状 ORF が同定された、となる。ここに最近の研究成果を付け加えるなら、1) いくつかの植物種でミトコンドリアゲノム全塩基配列決定が完了しゲノム上の遺伝情報に対する理解が深まったこと、2) トウモロコシやペチュニア以外の植物種からも CMS 原因遺伝子と目される ORF の報

告が相次いだこと、および 3) いくつかの稔性回復遺伝子のクローン化が成功したこと、の 3 つが挙げられよう。

本稿は平成 17 年度日本育種学会奨励賞の受賞講演をまとめるよう依頼されたものであるが、講演要旨との重複を避けるため、受賞内容に関連する前 2 者を中心に最近の知見を述べることとし、稔性回復遺伝子については触れない。稔性回復遺伝子、ミトコンドリアゲノムあるいは CMS に興味のある読者は別な総説も参照されたい (Schnable and Wise 1997, Hanson and Bentolila 2004, 久保・三上 2005, 門脇 2005)。

## 2. 塩基配列分析から明らかになったミトコンドリアゲノムの多様性

よく知られている議論であるが、被子植物ミトコンドリアに Palmer and Shields (1984) の提唱した「マスターサークルなる塩基配列情報を最低限一通りそろえた単一の環状分子」が実際に存在するかどうかは疑わしい。しかしながら、現状では染色体歩行やショットガンシーケンス法により構築されたそれらしく見える環状分子の塩基配列情報を「ミトコンドリアゲノム全塩基配列」として扱っている。

シロイヌナズナミトコンドリアゲノム全塩基配列決定 (Unsel et al. 1997) を嚆矢として、これまでにテンサイ 2 系統 (Kubo et al. 2000, Satoh et al. 2004)、ナタネ (Handa 2003) およびタバコ (Sugiyama et al. 2005) といった双子葉植物、あるいはイネ (Notsu et al. 2002)、トウモロコシ (Clifton et al. 2004) およびコムギ (Ogihara et al. 2005) といったイネ科植物で次々とミトコンドリアゲノム全塩基配列が決定されている。ゲノムサイズや遺伝子構成を表 1 と表 2 にまとめた。

## 1) 遺伝子構成

各々のゲノムから見つかった遺伝子は 50 ~ 60 種で、

表 1. 塩基配列の決定されたミトコンドリアゲノムの遺伝子構成比較

植物名(系統または品種)	テンサイ (TK81-O)	テンサイ (TK81-MS)	タバコ (Bright Yellow4)	シロイヌ ナズナ (Col-0)	ナタネ (Wester)	イネ (Nipponbare)	トウモロコ シ(B37N)	コムギ (Chinese Spring)
細胞質名称	Owen cytoplasm		nap cytoplasm		NB			
マスターサークルサイズ(nt)	368,801 <sup>1)</sup>	501,020	430,597	366,924	221,853	490,520	569,630	452,528
Accession number	BA000009	BA000024	BA000042	Y08501	AP006444	BA000029	AY506529	AP008982
複合体 I	nad1, 2, 3, 4, 4L, 5, 6, 7, 9	+	+	+	+	+	+	+
複合体 II	sdh3	-	-	+	-	-	-	-
	sdh4	ψ	ψ	+	ψ	ψ	-	-
複合体 III	cob	+	+	+	+	+	+	+
複合体 IV	cox1, 2, 3	+	+	+	+	+	+	+
複合体 V	atp1, 4, 6, 8, 9	+	+	+	+	+	+	+
シトクロム c 生成	ccmB	+	+	+	+	+	+	+
	ccmC	+ <sup>2)</sup>	+ <sup>2)</sup>	+	+	+	+	+
	ccmFC	+	+	+	+	+	+	+
	ccmFN	+	+	+	+ <sup>3)</sup>	+ <sup>3)</sup>	+	+
	rpl2	-	-	+	+	+	+	ψ
	rpl5	+	+	+	+	+	+	-
	rpl16	-	-	+	+	+	+	+
	rps1	-	-	+	-	-	+	+
	rps2	-	-	-	-	-	+	+
	rps3	+	+	+	+	+	+	+
リボソーム タンパク質	rps4	+	+	+	+	+	+	+
	rps7	+	+	-	+	+	+	+
	rps10	-	-	+	-	-	-	-
	rps11	-	-	-	-	-	ψ	-
	rps12	+	+	+	+	+	+	+
	rps13	+	+	+	-	-	+	+
	rps14	-	-	ψ	ψ	+	ψ	-
	rps19	-	-	+	ψ	-	+	-
トランスロ ケーター	mttB	+	+	+	+	+	+	+
Maturase	mat-R	+	+	+	+	+	+	+
rRNA	rrn5, 18, 26	+	+	+	+	+	+	+
CMS 関連 ORF		<i>preSap6</i>			<i>orf222</i>			

<sup>1)</sup>、改訂済み；<sup>2)</sup>、異常なアミノ末端伸長域を持つ；<sup>3)</sup>、二つの ORF に分かれている

これは典型的な脊椎動物 (37 種) より多いものの、ゼニゴケ (72 種) 等の非被子植物より少ない。全ての遺伝子は普遍遺伝暗号に従い、コドンの三文字目に A もしくは T を配する場合が多い (Sugiyama *et al.* 2005)。翻訳開始コドンは通常 ATG であるが、それ以外のコドンが開始コドンと考えられる場合が数例知られている (Handa 2003, Sunkel *et al.* 1994, Thomson *et al.* 1994)。塩基配列が決まったゲノムに共通する遺伝子は、複合体 I (9 種)、複合体 IV (3 種)、複合体 V (5 種)、rRNA (3 種)、*mttB*、*mat-R*、および 10 種の tRNA であるが、個々の遺伝子全てについて機能解析が行われているわけではない。一方、表 1 以外の植物種に目を向けると、共通遺伝子である複合体 IV の *cox2* が、マメ科では機能遺伝子が核に移行しミトコンドリアゲノム上の遺伝子が不活化している例も見

つかる (Nugent and Palmer 1991)。

ある遺伝子が機能しているか否かを調べる指標の一つが RNA エディティングの有無であろう。RNA エディティング部位を網羅的に調べたのは、シロイヌナズナ (遺伝子コード域中に 441 か所)、イネ (491 か所) およびナタネ (427 か所) である (Giege and Brennicke 1999, Notsu *et al.* 2002, Handa 2003)。興味深いことにシロイヌナズナとナタネでエディティング部位を比較したところ、遺伝子コード域の相同性が 99% を越えるにもかかわらず、シロイヌナズナもしくはナタネの各々に固有のエディティング部位が数多く存在することがわかった。これはミトコンドリアゲノムの多様性というよりは、むしろ RNA エディティングに関わる核因子の多様性と思われる。

リボソーム RNA を除く、ミトコンドリア内の翻訳反応

表 2. ミトコンドリアゲノム中の tRNA 遺伝子構成比較

	テンサイ <sup>*1</sup>	タバコ	シロイヌナズナ	ナタネ	イネ	トウモロコシ	コムギ
trnA-UGC	— <sup>*2</sup>	—	—	—	—	ψcp	ψcp
trnC-GCA	ψ <sup>*3</sup> na <sup>*4</sup> un <sup>*5</sup>	na	na	na	ψna cp <sup>*6</sup>	cp	cp
trnD-GAC	cp	cp	cp	cp	na	na	na
trnE-UUC	na	na cp	na	na	na	na	na
trnF-GAA	na	na	—	—	cp	ψna cp	ψna cp
trnG-GCC	na	na	na	na	—	—	—
trnH-GUG	cp	cp	cp	cp	cp	cp	—
trnI-C <sup>7</sup> AU	na	na cp	na	na	na ψcp	na ψcp	na
trnI-GAU	—	—	—	—	—	cp	—
trnK-UUU	na	na	na	na	na	na	na
trnL <sup>f</sup> -CAU	na	na	na	na	na	na	na
trnM-CAU	cp	cp	ψcp	cp	cp	cp	cp
trnN-GUU	cp	cp	cp	cp	cp	cp	cp
trnP-UGG	na ψcp	na cp	na	na	na ψcp	na ψcp	na
trnQ-UUG	na	na	na	na	na	na	na
trnR-UCU	—	—	—	—	ψcp	—	—
trnR-ACG	—	—	—	—	—	ψcp	—
trnS-GGA	cp	cp	cp	cp	cp	—	cp
trnS-GCU	na	na	na	na	na	na	na
trnS-UGA	na	na	na	na	na	na	na
trnV-GAC	ψcp	—	—	—	ψcp	ψcp	—
trnW-CCA	cp	cp	ψcp	cp	cp	cp <sup>*3</sup>	cp
trnY-GUA	na	na	na	na	na	na	na

<sup>\*1</sup>, TK81-O と TK81-MS の遺伝子構成は同一；<sup>\*2</sup>, 存在しない；<sup>\*3</sup>, 偽遺伝子；<sup>\*4</sup>, 在来型；<sup>\*5</sup>, 由来不明；<sup>\*6</sup>, 葉緑体型；<sup>\*7</sup>, 転写後修飾を受ける

に関わる遺伝子の構成は植物種ごとに大きく異なっている。このうち、リボソームタンパク質遺伝子の多様性やそれを生み出す機構に関しては既に優れた研究があるので(門脇 2005), ここでは tRNA 遺伝子について述べる。ミトコンドリア中の tRNA 分子の起原は多様であり、植物種によって様相が大きく異なっている。塩基配列の決まったミトコンドリアゲノムにはアラニン, アルギニン, ロイシン, スレオニンおよびバリンに対応する機能的な tRNA 遺伝子は存在しない(表 2)。また, これらのアミノ酸に対応する tRNA 遺伝子を保持する被子植物は見つかっていないので, おそらく被子植物の共通祖先は既にこれらの遺伝子を失っていたと考えられる。シロイヌナズナでは, ミトコンドリアゲノムにコードされる tRNA 遺伝子の発現解析が網羅的に行われ, 機能性遺伝子は 15 種と報告された(Duchene and Marechal-Drouard 2001)。これに基づくなら, シロイヌナズナミトコンドリアゲノムでは, 上述の tRNA 遺伝子に加え, さらにフェニルアラニン, 伸長型メチオニンおよびトリプトファンに対応する tRNA が存在しないことになる。不足する tRNA 分子は細胞質の tRNA 分子をミトコンドリア内へ輸送することで補われている(Schneider and Marechal-Drouard 2000)。

ミトコンドリアゲノムにコードされる tRNA 遺伝子は, 在来型 tRNA 遺伝子(10~12 種)と, 外来型 tRNA 遺伝子(4~9 種)に分けられる。在来型とは, ミトコンドリア

が細胞内共生を確立して以来, ゲノム中に保存されてきた tRNA 遺伝子群であり, ゼニゴケなどの下等植物ミトコンドリアゲノムからも対応する遺伝子が見つかる。一方, 外来型 tRNA 遺伝子は, 進化の過程でミトコンドリアゲノムが取り込んだ tRNA 遺伝子であり, 葉緑体型とそれ以外に細分できよう。葉緑体型は葉緑体ゲノム上の tRNA 遺伝子と高い相同性を示し, 葉緑体起原と考えられる。塩基配列の決まったミトコンドリアゲノムには, 共通して見いだされる葉緑体型 tRNA や, 単子葉植物にのみ共通の葉緑体型 tRNA などがあり(表 2), 各々がミトコンドリアゲノムに組み込まれたタイミングを推し量ることができる。

テンサイミトコンドリアゲノムからは, 在来型とも, 葉緑体型とも異なる由来不明のシステイン tRNA 遺伝子(*trnC2-GCA*)が見つかった(Kubo *et al.* 2000)。テンサイミトコンドリアゲノムでは他の双子葉植物から見つかる在来型 *trnC1-GCA* は偽遺伝子化しており, 由来不明の *trnC2-GCA* が唯一のシステイン担当の tRNA 遺伝子である。この tRNA 遺伝子の起原はわかっていない。

## 2) イントロン構成

塩基配列の決まったミトコンドリアゲノムからは 20~24 か所の Group II イントロンが見つかった。イントロン構成に多様性をもたらすメカニズムは, イントロ

ンの消失と、シスプライシングからトランスプライシングへのプライシング様式の変更であり、新たなイントロンの獲得は認められない。しかしながら、表1以外の植物種では、他生物種からの水平移行に由来するイントロンの獲得が報告されている (Cho *et al.* 1998)。

### 3) 遺伝子間領域

被子植物ミトコンドリアゲノムでは、遺伝子コード域やイントロン領域の塩基配列の保存性はかなり高く、相同性検索により容易にこれらの領域を特定することができる。一方、残りの遺伝子間領域は植物種ごとに、あるいは種内でもきわめて保存性が低く、かなりの部分が由来のわからない配列で構成されている。ゲノム全体に占める割合については、遺伝子コード域とイントロン領域をあわせてもせいぜい2割強程度で、遺伝子間領域は被子植物ミトコンドリアゲノムのおおよそ7割以上、植物種によっては9割近くに相当する。従って、被子植物ミトコンドリアゲノムの多様性を担うのは遺伝子間領域の構造多型であるといえそうである。

被子植物ミトコンドリアゲノム中に‘promiscuous DNA’と呼ばれる葉緑体 DNA や核 DNA の相同配列が発見されると (Timmis *et al.* 2004)、遺伝子間領域の大部分はこれらの配列から構成されるのではないかという予想もあったが、ミトコンドリアゲノムの塩基配列分析はこれを支持していない。これまでの分析によれば、葉緑体 DNA 相同配列はゲノムの 1.1 ~ 6.3%、核 DNA 相同配列は 0.1 ~ 13.4% にすぎない。最近になって、被子植物ミトコンドリアゲノムには他生物からの水平移行により獲得した塩基配列が存在するという報告が相次いでいる (Cho *et al.* 1998, Bergthorsson *et al.* 2003, Davis and Wurdack 2004, Mower *et al.* 2004)。しかしながら、こうした配列がゲノムに占める割合を算出するのは困難であるし、核 DNA 相同配列や葉緑体 DNA 相同配列を越えるとも思えない。

遺伝子間領域の構造多型を解析する上で、近縁種間、あるいは同一種内における比較解析は重要な情報を提供すると思われる。こうした解析は、ミトコンドリアゲノム塩基配列情報の蓄積により初めて可能になった。例えば、アブラナ科に属するシロイヌナズナとナタネのミトコンドリアゲノム全塩基配列を比較したところ、ゲノムサイズはナタネの方が 100 kbp 以上小さいにもかかわらず、ナタネ固有配列が合計 78 kbp 見つかったという (Handa 2003)。その内訳は、13% がシロイヌナズナ以外のミトコンドリアに相同配列が見つかるもの、6% が葉緑体 DNA 相同配列、0.3% が核 DNA 相同配列で、残りは由来の不明な配列であった。トウモロコシの例では、由来の異なるトウモロコシ正常細胞質ミトコンドリアゲノム同士で 40 kbp 領域を比較したところ、相同性が認められた領域は 26 kbp であったという (Clifton *et al.* 2004)。同様なデータはテンサイでも得られており、正常株ミトコンドリアゲノムとの比較から見つかった CMS 株固有配列 68 kbp

(ゲノム全体の 13.6% に相当) のうち、ミトコンドリアゲノムから見つかる配列 7.6%、核 DNA 相同配列 17.9%、葉緑体 DNA 相同配列 0.1%、ミトコンドリアプラスミド相同配列 4.6% を除く 69.8% が由来の不明な配列であった (Sato *et al.* 2004, Sato *et al.* 2006)。以上のように、被子植物のミトコンドリアゲノムは進化の過程で急速に遺伝子間領域の塩基配列を変更しているようであるが、promiscuous DNA の獲得によりその全てを説明することはできず、由来の不明な配列が大きな役割を果たしているようである。由来の不明な配列が出現する機構を詳細に検討した事例は非常に少ないが、既存の配列が著しい再編成を受けて、原型をとどめなくなった末路なのかもしれない (Lilly and Harvey 2001, Sato *et al.* 2006)。

### 3. CMS原因遺伝子の探索

前述のような被子植物ミトコンドリアゲノム像は最近になって描かれたものであり、様相の皆目わからない巨大ゲノムから得体の知れない CMS 原因遺伝子を取り出すとした先駆的研究には、ただただ敬服するばかりである。こうした研究は、ほとんどの場合 CMS 株と正常型とのミトコンドリアゲノム構造変異が出发点となった。しかしながら、被子植物ミトコンドリアゲノムは進化の過程で盛んに組み換えや固有配列獲得を繰り返しながら進化しているので、構造変異領域の大部分は CMS とは無関係である。そのため、CMS 関連領域だけを選び出す様々な工夫が凝らされてきたが、典型的に、1) 正常株と CMS 株の細胞融合によりミトコンドリアゲノム間の組み換えを促し、個々の構造変異領域を分離させ、雄性不稔性と連鎖する領域を選び出す、2) 花粉稔性復帰突然変異体において変化するミトコンドリアゲノム領域を探す、3) 構造変異域の遺伝子発現を調査する、もしくは CMS 株特異的な転写領域を選び出す、に分けられる。こうして選出された候補領域は、さらに稔性回復に伴い当該領域の遺伝子発現が変化するか否かが検討され、CMS 関連領域として記述されてきた (Schnable and Wise 1997, Hanson and Bentolila 2004)。

CMS 関連領域は CMS 株固有配列を含み、それらは既存の配列の著しい再編成の産物か、由来不明の配列から構成されており、ORF を含むことができる。Hanson and Bentolila (2004) の総説によれば、そうした ORF はこれまでに 12 種以上見つかった。こうした CMS 株固有 ORF はミトコンドリア内で翻訳されており、多くの場合稔性回復遺伝子存在下で蓄積量が減少する。こうした事実から、CMS 株固有 ORF 翻訳産物がミトコンドリアに何らかの機能障害をもたらし、その結果雄性不稔性が発現すると考えられている。では、その他の CMS 株ミトコンドリアゲノム領域に異常は認められないのだろうか。現在、塩基配列が決定されているミトコンドリアゲノムのうち、ナタネ (*Brassica napus* cv. Wester) と、二つのテ

ンサイ系統のうち1つ (*Beta vulgaris* cv. TK81-MS) は CMS 細胞質を保持し、それぞれ *orf222* と *preSatp6* なる CMS 株固有遺伝子の存在が報告されている (Brown 1999, Yamamoto *et al.* 2005). 著者らは TK81-MS ミトコンドリアゲノムの遺伝子配列をテンサイ正常株ミトコンドリアゲノムと比較してみたが、遺伝子機能を損なうような明白な異常は認められなかった (Sato *et al.* 2004). このことは、CMS 株固有 ORF が雄性不稔性を引き起こすポリペプチドをコードしているというモデルを支持している。

#### 4. CMS株固有ORFの機能解析

以上のデータが示唆する、「雄性不稔性を引き起こすのに必要かつ十分な遺伝子が CMS 株にのみ存在する」というモデルは十分に検証されているのだろうか。現在までに実用的なミトコンドリア形質転換実験系は報告されていないので、これまでに行われてきた研究はいずれも便法的である。

まず、CMS 株固有 ORF を大腸菌や酵母のような微生物の中で発現させ、呼吸能や増殖速度が調べられた。CMS 株固有 ORF を大腸菌で発現させると、トウモロコシ *wf13-T* の場合はゴマ葉枯れ病毒素添加により、ヒマワリ *orf522*, ダイコン *orf138* およびイネ *orf79* は添加物無しでも、酸素呼吸低下および増殖速度低下といった異常が観察された (Dewey *et al.* 1988, Nakai *et al.* 1995, Duroc *et al.* 2005, Wang *et al.* 2006). ダイコン *orf138* では誘導したポリペプチドが相当量蓄積する以前から異常が起きていること、および導入遺伝子のアミノ酸配列を改変すると異常は認められないことから (Duroc *et al.* 2005), 観察された異常は外来タンパク質蓄積によるストレスというよりは CMS 株固有 ORF が潜在的に保持する性質に起因すると思われる。酵母を使った実験では、用いる ORF により異なる結果が得られている。トウモロコシ *wf13-T* にミトコンドリア移行シグナルペプチドを付加した融合遺伝子を酵母に導入すると、解糖系に依存しない炭素源下でゴマ葉枯れ病毒素 (もしくは殺虫剤 methomyl) を添加した場合に、ミトコンドリア内膜の脱共役、酸素呼吸低下および増殖速度の低下が観察された (Huang *et al.* 1990). 一方、ダイコン *orf138* を同様に酵母に導入しても、ミトコンドリアの形態変化以外に異常は起こらない (Duroc *et al.* 2006). ただし、ゴマ葉枯れ病毒素に相当する物質は添加されていない。

CMS 株固有 ORF を植物に導入し、雄性不稔性を再現できるか否かが検討されている。酵母と同様に、CMS 株固有 ORF にミトコンドリア移行シグナルペプチドを付加した融合遺伝子を導入したところ、インゲンマメ *orf239* とイネ *orf79* では雄性不稔植物が得られたが (He *et al.* 1996, Wang *et al.* 2006), トウモロコシ *wf13-T*, ペチュニア *pcf* およびダイコン *orf138* では得られなかった (Chaumont *et al.* 1995, Wintz *et al.* 1995, Duroc *et al.* 2006). しかしなが

ら、こうした実験では、付加するミトコンドリア移行シグナルペプチドや導入遺伝子のプロモーターが十分に検討されているとは言い難く、遺伝子導入植物のミトコンドリアに蓄積した CMS 株固有ポリペプチドが、元の CMS 植物と全く同じ挙動を再現しているかどうか調査する必要がある。

#### 5. 終わりに

トウモロコシ *wf13-T* やペチュニア *pcf* の示す、既存配列がモザイク状に組み合わされた異様な姿は、発表当時からかなり衝撃的であったろうと推察する。一方、最近になって被子植物ミトコンドリアゲノムの塩基配列分析が進み、正常株の遺伝子間領域にもモザイク状 ORF が存在することがわかった (Marienfeld *et al.* 1997, 久保友彦, 未発表データ). さらに、テンサイ CMS 株のミトコンドリアゲノムには CMS 関連 ORF である *preSatp6* 以外にも、一見すると CMS 原因遺伝子と見まごうばかりのモザイク状 ORF が通常のミトコンドリア遺伝子のすぐそばに見つかる事例がある (Sato *et al.* 2004). 著者らはこれらの ORF の発現を検討してみたが、翻訳産物が蓄積している証拠は得られなかった (Yamamoto *et al.* 2005). 従って、CMS 関連遺伝子の起原は、進化の過程で広大な遺伝子間領域のどこかで生み出された ORF がゲノム再編成の過程で遺伝子発現制御に必要な配列を獲得して生じたもの、と言えそうである。しかも、これまで報告された CMS 関連遺伝子は疎水性のポリペプチドをコードするという以外に一次配列上の共通点はほとんど無く、いずれも進化の過程で独立に出現した ORF と思われる。

では、CMS の発現機構にも共通点は無いのだろうか。ホメオティック変異などの外部形態的に明らかに異なるケースを除くと、CMS 株で最初に異常が観察されるのは減数分裂後のタペート細胞であることが多い (Schnable and Wise 1997). この時期のタペート細胞において、ミトコンドリア機能やプログラム細胞死を阻害すると花粉形成に重篤な影響を及ぼすことが示されており (Yui *et al.* 2003, Kawanabe *et al.* 2006), CMS 原因遺伝子の多様性がどこまで雄性不稔性発現機構の多様性を反映しているか一つの問題である。今後、CMS 植物において雄性不稔に至る分子的機構が明らかになると面白い。

#### 謝辞

本稿をまとめるにあたり、常脇恒一郎先生、門脇光一博士、半田裕一博士、杉山康夫博士および上田実博士には貴重なご意見をいただいた。三上哲夫先生をはじめ、北海道大学大学院農学研究院の諸先生・諸兄姉には平日頃よりご助力を賜っている。ここに記し、篤くお礼申し上げる。

## 引用文献

- Bergthorsson, U., K.L. Adams, B. Thomason and J.D. Palmer (2003) Widespread horizontal transfer of mitochondrial genes in flowering plants. *Nature* 424: 197–201.
- Brown, G.G. (1999) Unique aspects of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in *Brassica napus*. *J. Heredity* 90: 351–356.
- Chaumont, F., B. Bernier, R. Buxant, M.E. Williams, C.S. Leving III and M. Boutry (1995) Targeting the maize T-urf13 product into tobacco mitochondria confers methomyl sensitivity to mitochondrial respiration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 1167–1171.
- Cho, Y., Y.-L. Qiu, P. Kuhlman and J.D. Palmer (1998) Explosive invasion of plant mitochondria by a group I intron. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 14244–14249.
- Clifton, S.W., P. Minx, C.M. Fauron, M. Gibson, J.O. Allen *et al.* (2004) Sequence and comparative analysis of the maize NB mitochondrial genome. *Plant Physiol.* 136: 3486–3503.
- Davis, C.C. and K.J. Wurdack (2004) Host-to-parasite gene transfer in flowering plants: phylogenetic evidence from Malpighiales. *Science* 305: 676–678.
- Dewey, R.E., J.N. Siedow, D.H. Timothy and C.S. Leving III (1988) A 13-kDa maize mitochondrial protein in *E. coli* confers sensitivity to *Bipolaris maydis* toxin. *Science* 239: 293–294.
- Duchene, A.-M. and L. Marechal-Drouard (2001) The chloroplast-derived *twmW* and *trnM-e* genes are not expressed in *Arabidopsis* mitochondria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 285: 1213–1216.
- Duroc, Y., C. Gaillard, S. Hiard, M.-C. Defrance, G. Pelletier and F. Budar (2005) Biochemical and functional characterization of ORF138, a mitochondrial protein responsible for Ogura cytoplasmic male sterility in Brassicaceae. *Biochimie* 87: 1089–1100.
- Duroc, Y., C. Gaillard, S. Hiard, C. Tinchant, R. Berthome, G. Pelletier and F. Budar (2006) Nuclear expression of a cytoplasmic male sterility gene modifies mitochondrial morphology in yeast and plant cells. *Plant Sci.* 170: 755–767.
- Giege, P. and A. Brennicke (1999) RNA editing in *Arabidopsis* mitochondria effects 441 C to U changes in ORFs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 15324–15329.
- Handa, H. (2003) The complete nucleotide sequence and RNA editing content of the mitochondrial genome of rapeseed (*Brassica napus* L.): comparative analysis of the mitochondrial genomes of rapeseed and *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res.* 31: 5907–5916.
- Hanson, M.R. and S. Bentolila (2004) Interaction of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *Plant Cell* 16: S154–169.
- He, S., A.R. Abad, S.B. Gelvin and S.A. Mackenzie (1996) A cytoplasmic male sterility-associated mitochondrial protein causes pollen disruption in transgenic tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 11763–11768.
- Huang, J., S.H. Lee, C. Lin, R. Medici, E. Hack and A.M. Myers (1990) Expression in yeast of the T-urf13 protein from Texas male-sterile maize mitochondria confers sensitivity to methomyl and to Texas-cytoplasm-specific fungal toxins. *EMBO J.* 9: 339–347.
- 門脇光一 (2005) ミトコンドリアゲノムの構造, 複製と進化. *蛋白質核酸酵素* 50: 1782–1785.
- Kawanabe, T., T. Ariizumi, M. Kawai-Yamada, H. Uchimiya and K. Toriyama (2006) Abolition of tapetum suicide program ruins microsporogenesis. *Plant Cell Physiol.* DOI: 10.1093/pcp/pcj039.
- Kubo, T., S.Nishizawa, A. Sugawara, N. Itchoda, A. Estiati and T. Mikami (2000) The complete nucleotide sequence of the mitochondrial genome of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) reveals a novel gene for tRNA<sup>Cys</sup> (GCA). *Nucleic Acids Res.* 28: 2571–2576.
- 久保友彦・三上哲夫 (2005) 植物の性表現を変えるミトコンドリア遺伝子と核遺伝子の相互作用. *蛋白質核酸酵素* 50: 1803–1807.
- Lilly, J.W. and M.J. Harvey (2001) Small, repetitive DNAs contribute significantly to the expanded mitochondrial genome of cucumber. *Genetics* 159: 317–328.
- Marienfeld, J.R., M. Unseld, P. Brandt and A. Brennicke (1997) Mosaic openreading frames in the *Arabidopsis thaliana* mitochondrial genome. *Biol. Chem.* 378: 859–862.
- Mower, J.P., S. Stefanovic, G.J. Young and J.D. Palmer (2004) Gene transfer from parasitic to host plants. *Nature* 432: 165–166.
- Nakai, S., D. Noda, M. Kondo and T. Terachi (1995) High-level expression of a mitochondrial *orf522* gene from the male-sterile sunflower is lethal to *E. coli*. *Breed. Sci.* 45: 233–236.
- Notsu, Y., S. Masood, T. Nishikawa, N. Kubo, G. Akiduki *et al.* (2002) The complete sequence of the rice (*Oryza sativa* L.) mitochondrial genome: frequent DNA sequence acquisition and loss during the evolution of flowering plants. *Mol. Genet. Genomics* 268: 434–445.
- Nugent, J. and J.D. Palmer (1991) RNA-mediated transfer of the gene *coxII* from the mitochondrion to the nucleus during flowering plant evolution. *Cell* 66: 473–481.
- Ogihara, Y., Y. Yamazaki, K. Murai, A. Kanno, T. Terachi *et al.* (2005) Structural dynamics of cereal mitochondrial genomes as revealed by complete nucleotide sequencing of the wheat mitochondrial genome. *Nucleic Acids Res.* 33: 6235–6250.
- Palmer, J.D. and C.R. Shields (1984) Tripartite structure of the *Brassica campestris* mitochondrial genome. *Nature* 307: 437–440.
- Satoh, M., T. Kubo, S. Nishizawa, A. Estiati, N. Itchoda and T. Mikami (2004) The cytoplasmic male-sterile type and normal type mitochondrial genomes of sugar beet share the same complement of genes of known function but differ in the content of expressed ORFs. *Mol. Genet. Genomics* 272: 247–256.
- Satoh, M., T. Kubo and T. Mikami (2006) The Owen mitochondrial genome in sugar beet (*Beta vulgaris* L.): possible mechanisms of extensive rearrangements and the origin of the mitotype-unique regions. *Theor. Appl. Genet.* 113:477–484.
- Schnable, P.S. and R.P. Wise (1997) The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends Plant Science* 3: 175–180.
- Schneider, A. and L. Marechal-Drouard (2000) Mitochondrial tRNA import: are there distinct mechanisms? *Trends Cell Biol.* 10: 509–513.
- Sugiyama, Y., Y. Watase, M. Nagase, N. Makita, S. Yagura *et al.* (2005) The complete nucleotide sequence and multipartite organization of the tobacco mitochondrial genome: comparative analysis of mitochondrial genomes in higher plants. *Mol. Genet. Genomics* 272: 603–615.
- Sunkel, S., A. Brennicke and V. Knoop (1994) RNA editing of a conserved reading frame in plant mitochondria increases its similarity to two overlapping reading frames in *Escherichia coli*. *Mol.*

- Gen. Genet. 242: 65–72.
- Thomson, M.C., J.L. Macfarlane, C.T. Beagley and D.R. Wolstenholme (1994) RNA editing of *mat-r* transcripts in maize and soybean increases similarity of the encoded protein to fungal and bryophyte group II intron maturases: evidence that *mat-r* encodes a functional protein. *Nucleic Acids Res.* 22: 5745–5752.
- Timmis, J., M.A. Ayliffe, C.Y. Huang and W. Martin (2004) Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. *Nat. Rev. Genet.* 5: 123–135.
- Unsel, M., J.R. Marienfeld, P. Brandt and A. Brennicke (1997) The mitochondrial genome of *Arabidopsis thaliana* contains 57 genes in 366,924 nucleotides. *Nat. Genet.* 15: 57–61.
- Wang, Z., Y. Zou, X. Li, Q. Zhang, L. Chen, H. Wu, D. Su, Y. Chen, J. Guo, D. Luo, Y. Long, Y. Zhong and Y.-G. Liu (2006) Cytoplasmic male sterility of rice with *BoroII* cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing. *Plant Cell* 18: 688–698.
- Wintz, H., H.C. Chen, C.A. Sutton, C.A. Conley, A. Cobb, D. Ruth, M.R. Hanson (1995) Expression of the CMS-associated *urfS* sequence in transgenic petunia and tobacco. *Plant Mol. Biol.* 28: 83–92.
- Yamamoto, M.P., T. Kubo and T. Mikami (2005) The 5'-leader sequence of sugar beet mitochondrial *atp6* encodes a novel polypeptide that is characteristic of the Owen cytoplasmic male sterility. *Mol. Gen. Genomics.* 273: 342–349.
- Yui, R., S. Iketani, T. Mikami and T. Kubo (2003) Antisense inhibition of mitochondrial pyruvate dehydrogenase E1 $\alpha$  subunit in anther tapetum causes male sterility. *Plant J.* 34: 57–66.