

1Cp-3

クロレラ葉緑体DNAの構造にみられる不均一性について

山田 隆 (三菱化成・生命研)

一般に藻類の葉緑体DNAは、高等植物(双子葉・単子葉)やシメジ類のそれと比べて、物理的性状(サイズ・GC含量等)或いは、分子構造(Inverted Repeat, rRNAオペロン等)に大きな不均一性が見られる。この傾向は、比較的増殖速度の速い単細胞藻において際立っており(例、*Euglena*, *Chlamydomonas*, *Codium*, *Acetabularia*, *Chlorella*, etc.)。葉緑体ゲノムの構造を一つの指標として、光合成生物の系統発生上の相関関係を議論するという立場からみれば、これら藻類においては、より広い“Diversity”が存在すると言えよう。真核性光合成生物として最も単純な細胞体制を呈する緑藻の一群 *Chlorella* は、藻類の中でもとりわけ分布が広く、また多様に亘っており、その多様性(例えば、核ゲノムのGC含量は種間で43~79%に分布)は、118118分類上、或いは株の取扱上問題となっており、ここでも、この様な多様性を有する *Chlorella* を材料として、(1)光合成機能の本質を担う葉緑体のゲノム構造にみられる変異(不均一性)の性質を明らかにし、一般に系統発生上の関係を考える、及び(2) *Chlorella* 属内種間或いは株間の類縁性の分子指標として、葉緑体ゲノム構造を検討する、の二点を基本的興味として以下の研究を行った。

既に筆者は、*Chlorella* の一種 *C. ellipsoidea* C-87の葉緑体DNAについて調べ、その性状・分子構造を明らかにし¹⁾、Inverted Repeat 及び rRNA 遺伝子の構成等が高等植物のそれと比較的よく似ている事を示した²⁾。今回はさらに *C. vulgaris* グループに属する他の株々、細胞壁構造が互いに類似し、ポトプラストが比較的容易に計四株(*C. vulgaris* C-135, C-150, C-169, 及び *C. saccharophila* C-211)³⁾の葉緑体DNAの性状と構造を調べ比較を行った。DNAはポトプラストライゼートからCsCl密度勾配-Hoechst 33258超遠心分離法により調製した。葉緑体DNAは、①大型環状構造、②浮遊密度 $\rho=1.695\sim1.699\text{ g/cm}^3$ 、③葉緑体rRNA遺伝子とのハイブリダイゼーション、④RuBPCase 大サブユニット遺伝子とのハイブリダイゼーションを基準として同定した。何れの株においてもHoechst-CsCl超遠心分離による生じた三〜数本のDNAバンドのうち、最も浮遊密度の小さいものが葉緑体DNAであった(C-87, 1.695; C-135, 1.697; C-150, 1.697; C-169, 1.707; C-211, 1.699 g/cm^3)。電顕で大型環状分子を確認され、そのサイズは各C-87, 175; C-135, 154.5; C-150, 150.8; C-169, 206.2; C-211, 180.4 kbpであった。このサイズはEcoRI 切断パターンからの値と一致した。各株についてEcoRI切断パターンを比較すると、C-135とC-150間では約90%の相同性があるのに対し、他の株間では高々数%の相同性しか見られなかった。またrDNAをプローブとしたSouthern hybridizationの結果、rRNA遺伝子群が各株で2セットずつ重複している事が明らかとなった。しかしながらその構造にはかなりの不均一性が見られた。RuBPCase 大サブユニット遺伝子構造は、これと対照的に各株間でよく保存されている。この様に *Chlorella* においては同一種内株間で、葉緑体DNAの性状及び構造に大きな不均一性が存在する事が明らかとなり、この差異の实体・系統発生上の意義及び *Chlorella* の占める“位置”等に大きな興味を生じる。

1) Plant Physiol. 70, 92-96 (1982), 2) Curr. Genet. 2, 48-49 (1983), 3) Arch. Microbiol. 132, 10-13 (1982).