

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		植物特異的なオルガネラゲノム安定性維持機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Analysis of a plant-specific mechanism for the maintenance of organelle genome stability			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)オダハラ	名)マサキ	研究期間 B	2017 ~ 2019 年
	漢字 CB	小田原	真樹	報告年度 YR	2019 年
	ローマ字 CZ	Odahara	Masaki	研究機関名	理化学研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		理化学研究所 環境資源科学研究センター 研究員			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) 植物のオルガネラ DNA は光合成や呼吸に必須な遺伝子をコードしており、安定的に維持されなければならない。これまでの研究から、モデル植物ヒメツリガネゴケにおいて相同組換えに関わる因子(HRR)が短い反復配列間の異常な組換えを抑制することによりオルガネラゲノムの安定性を維持していることが明らかになっている。本研究では、次世代シーケンズ解析により、HRR 欠損時に生じるオルガネラゲノムの変異の全体像を明らかにするとともに、大腸菌 HRR 変異体との比較を行った。葉緑体とミトコンドリアのゲノムそれぞれに対して約 x25000 と x4000 のカバレッジで Illumina ショートリード(150 bp)によるディープシーケンシングを行った。マッピングの結果、HRR 変異体のオルガネラゲノムはデプスが不均一であり、変異体のオルガネラゲノムに大規模な変化が生じていることが明らかになった。情報学的解析によりリード中に含まれる変異(組換え、欠失、挿入)を検出したところ、変異体から多数の変異が検出され、その大部分は組換えであった。これらの変異には、これまで実験的に同定してきた変異に加えて新規のものが多数含まれており、この手法によってオルガネラゲノムの変異を網羅的かつ高感度に検出することができたと考えられる。これらの変異は予想外にゲノム上に偏って存在し、特に組換えは一方向のみの組換え体がゲノム上に偏って存在していた。一方、組換えの多くは予想よりも短い相同配列間で起きており、相同配列の長さと組換え頻度の間に相関は見られないことから、これらの組換えは場所依存的に起きていると考えられる。変異が偏って存在している箇所ではデプスも変化しており、ゲノムの複製との関連が示唆された。x1500-2000 のカバレッジで同様の解析を行った大腸菌 HRR 変異体のゲノムでは HRR 変異体オルガネラゲノムのようなデプスの大きな変化や偏った組換えは観察されなかった。これらのオルガネラ HRR 変異体におけるゲノム構造の大規模な変化を伴う偏ったゲノム再編成は、DNA 複製と密接に関係するオルガネラゲノム安定性維持機構を示唆する。					
キーワード FA	葉緑体	ミトコンドリア	ゲノム安定性	次世代シーケンシング	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード* TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Maintenance of plant chloroplast (cp) and mitochondrial (mt) DNA plays crucial role for organelle function as they encode genes for photosynthesis and respiration, respectively, and components for gene expression in organelle. By using a moss *Physcomitrella patens* as a model system, we have shown that knockout (KO) of bacterial-type homologous recombination repair (HRR) factors, RECA and RECG, induces organelle genome instability due to aberrant recombination between short dispersed repeats (SDRs). Here, we investigate locations and frequencies of these recombination in genome by deep-sequencing in combination with informatics approaches to uncover the landscape of the organelle genome instability of *P. patens* HRR KO mutants. By using two kinds of analysis, (1) the method using chimeric reads that include rearrangement junction, and (2) the method using paired-end information, we acquired the genome wide maps of the rearrangement positions in base pair resolution with their frequencies in the organelle genomes. The rearrangements, which are often associated with variation of read depths, are highly biased in terms of their directions and locations, and show prominent mutant-specific patterns. Base pair-resolution analysis shows that the rearrangements are mainly derived from asymmetric products from microhomology-mediated recombination, thus show no significant correlation between the rearrangement and the length of repeats. Similar analyses using *Escherichia coli* mutant of *recA* or *recG* showed no significant genomic rearrangements, unlike the mutant's organelle genomes. Our results reveal overall pictures of organelle-specific gross genomic rearrangements in the HRR mutants, and suggest mechanisms for replication-related rearrangements that are common between chloroplasts and mitochondria.