

1Aa-7

形質転換細胞におけるコムギヒストン遺伝子の転写とDNA合成との共役

多羽田哲也, 岩淵雅樹 (北大・理・植物)

T₁プラスミドによりヒマワリの細胞に導入されたコムギのヒストンH3遺伝子は、その転写産物が、5' および 3' 両末端とも、この遺伝子が本来のコムギゲノム中にある時と同じ位置に形成され、正確な転写が起こっていることが明らかとなった(昨年度本年会)。

多くの生物種で、ヒストン遺伝子の転写はDNA合成と共役していることが知られている。コムギの場合も、DNA合成阻害剤であるアフィディコリンを用いた実験により、DNA合成期にヒストンmRNAのレベルが高いことが示された。そこで、ヒマワリの細胞中でのコムギのH3遺伝子の転写とDNA合成との共役を明らかにするために以下の実験を行った。コムギのH3遺伝子を導入したヒマワリの細胞をアフィディコリンで24時間処理した。次に、全RNAを抽出し、ノーザン法により、ヒマワリの内在のヒストンmRNAのレベルを調べたところ、H3、H4共にアフィディコリン処理によって減少した。同じRNA試料を用い、導入されたコムギH3遺伝子の転写産物をS1法で解析すると、やはりアフィディコリン処理による特異的な減少がみられた。この時、内部標準に用いたT-DNAのセメル遺伝子のmRNAのレベルに変化はなかった。以上の結果は導入されたH3遺伝子の転写がヒマワリの細胞のDNA合成と少なくともある程度は共役していることを示しており、この系を用いることにより、転写調節にシスに働くDNA領域の同定が可能となった。

哺乳動物のヒストン遺伝子の転写調節には5' 上流域のみならず、mRNAの3' 末端形成にあずかるシグナルも重要な働きをしていることが知られている。今までに調べられている植物のヒストン遺伝子にはこのシグナルが見られないが、コムギの場合3' 末端付近にT、Gに富む配列があり、動物のヒストン遺伝子のシグナルと同様の働きをしていることが考えられる。そこで、この配列の役割を知るために、T₁プラスミド由来のノパリン合成酵素(NOS)遺伝子とのキメラ遺伝子を作成した。NOSのプロモーターの下流にH3遺伝子の下流域を結合し、T₁プラスミドに組み込み、ヒマワリの細胞に導入した。得られた形質転換細胞から全RNAを抽出し、S1マッピングにより解析した結果、転写産物の3' 末端は正確な位置で形成されていた。このことから、3' 末端形成のシグナルはヒストン以外の遺伝子の下流でも機能することが明らかとなった。また、現在まで調べられているすべての植物のヒストン遺伝子の5' 上流には8塩基の共通な配列が知られており、DNA合成との共役のシグナルである可能性が考えられる。そこで、H3の上流域とNOSの下流域からなるキメラ遺伝子を導入した形質転換細胞も作成した。これらの細胞をアフィディコリンで処理し、H3遺伝子の上流域、下流域が、DNA合成との共役に果たす役割を検討している。