

2Aa-6

サツマイモ塊根貯蔵タンパク質スボラミン遺伝子の器官特異的発現制御—核遺伝子の単離とその構造解析 ○服部東穂
石黒澄衛、村上茂樹、中村研三（名大・農・生化）

目的 サツマイモ塊根組織の全可溶性タンパク質の約80%を占めるスボラミン（分子量20,000）は一種の貯蔵タンパク質と考えられるが、このタンパク質は塊根以外の器官には殆ど存在せず、その遺伝子の発現は器官特異的に制御されている。我々は、多数のスボラミンcDNAの解析等からスボラミン遺伝子がサツマイモゲノム中で多重遺伝子族を形成していること、さらにそのメンバーは互いに約80%の相同性を持つホモロジーグループ、スボラミンAおよびBサブファミリーに分類されること等を明らかにしてきた。今回、我々は上述のようなスボラミン遺伝子の器官特異的な発現制御の機構を明らかにする目的で、スボラミン核遺伝子クローンを単離し、その構造解析を行った。

方法 まず、サツマイモ塊根組織から調製した高分子量DNAのSau3A部分解産物とλEMBL3ファージベクターを用いて遺伝子ライブラリーを作製した。次に、すでに単離済みのスボラミンcDNAをプローブに用いてこのライブラリーをスクリーンし、複数の陽性のシグナルを与えるブランクを得た。これらのブランクから得られた組み換え体ファージDNAについてスボラミンcDNAをプローブに用いてサザンプロットハイブリダイゼーションを行うことにより、これらのクローンの同定を行った。このようにして同定したクローンのうち互いに相同性を異にするもの2つ（gSPO-1およびgc-2）について、cDNAとハイブリダイズする領域を含むそれぞれ3.6Kbおよび4.7Kbの制限酵素断片をpUC119にサブクローンし、cDNAと相同な部分とその5'上流および3'下流それぞれ約1Kbおよび0.5Kbにわたる領域について塩基配列を決定した。

結果 gSPO-1の塩基配列解析の結果、このクローンに含まれるスボラミン遺伝子にはイントロンは存在せず、またスボラミンAに特徴的な3bpおよび6bpの塩基の欠失ないしは挿入が見られることや、スボラミンA cDNAとの間で90%以上の相同性がみられることから、スボラミンAサブファミリーのメンバーであると考えられた。完全鎖長のスボラミンA cDNAの5'末端から上流22および160bpの位置には典型的なTATA boxおよびCAATboxが見出された。また、CAAT boxのさらに上流にはアデノウイルスAd5のエンハンサー配列に相同な配列が2回半繰り返して存在していた。一方、gc-2に含まれるスボラミンcDNAと相同な領域には3bp、6bpおよび9bpの欠失ないしは挿入が見られた。gSPO-1とgc-2の間での欠失、挿入を除いた部分のアミノ酸配列レベルでの相同性は、約52%であった。スボラミンAおよびBサブファミリー間のアミノ酸配列の相同性は80%前後であることから、gc-2に含まれる配列はいずれのサブファミリーにも属さないものと考えられた。一方、50個以上のスボラミン全鎖長cDNAの解析から、塊根で発現しているスボラミン遺伝子の殆ど全てはAないしBサブファミリーのどちらかに属するものであることが予想されているので、gc-2にコードされている遺伝子が塊根中で発現している可能性は低いものと考えられた。しかしながら、この遺伝子の上流にも典型的なTATA boxが見られ、その周辺の配列も比較的よく保存されており、gc-2の発現については今後の検討を要する。