

3Aa-2

真核単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* の核リボソーム遺伝子—
17S-25Sスペーサー領域の構造

○福田 裕二、古川 謙介、三井 洋司 (通産省 微工研)

真核生物の核リボソーム遺伝子 (rDNA) は、ある一定の長さの繰り返し構造をもつ重複遺伝子である。各リボソーム遺伝子から同一の一次転写産物が作られ、リボソームの構成成分である 25S-28S, 17-18S 及び 5.8S リボソーム RNA (rRNA) へとプロセスされる。特に、5.8S rDNA の近接領域は、ITS1 (Internal transcribed spacer) 及び ITS2 と呼ばれ、RNA へ転写された後に、プロセスを受ける領域であり、RNA プロセッシングに重要なシグナルを有していると考えられる。この観点から、我々は真核単細胞緑藻である *Chlamydomonas* の核リボソーム DNA をクローン化し、5.8S rDNA 近傍領域の DNA 塩基配列と予想される転写 RNA の二次構造を明らかにした。

(方法) *C. reinhardtii* の 17S 及び 25S リボソーム RNA を Formaldehyde gel 電気泳動により単離調製し、これら RNA をそれぞれプローブとして核染色体 DNA 上の rDNA 断片を Southern hybridization により検出し、pUC8 上に 17S-25S rRNA 領域を含む 4.9kbp DNA 断片をクローン化し、また 17S と nontranscribed spacer 領域 (NTS) を含む 4.7kbp DNA 断片を bacteriophage λ L47 上にクローン化した。クローン化した rDNA 断片の各種制限酵素解析及び 17S, 25S rRNA との Southern hybridization により、リボソーム遺伝子の全構造を明らかにした。また、17S 3' 末端領域-5.8S-25S rDNA 5' 末端領域を含む 1071bp DNA 断片を pUC8 上にサブクローン化し、Dideoxy 法により DNA 塩基配列を決定し、その塩基配列の特異性を明らかにした。

(結果) *C. reinhardtii* の核リボソーム遺伝子は 8.0kbp をユニットとする繰り返し構造を有する multi-gene family であった。NTS 領域は、2.0kbp であり、この領域を含む DNA 断片は複数のプラスミド上にはクローン化されず、bacteriophage λ L47 上にクローン化された。恐らく NTS 領域上の特殊な DNA の二次構造に起因するものと考えられる。

17S 3' 末端領域-5.8S-25S rDNA 5' 末端領域の DNA 塩基配列の決定より、17S rRNA の末端領域及び 5.8S rRNA は、他の多くの真核生物と同様に conserved sequence が見られることが分かった。また 5.8S rRNA の 3' 末端領域には 25S rRNA の 5' 末端領域と相補する部位が存在した。ITS1 及び ITS2 領域は、それぞれ 206bp, 234bp であり、ITS2 の塩基配列から転写 RNA は、特殊な二次構造をとることが予想された。