

3Ap-1

フィトクロムmRNAの構造の多様性

佐藤直樹 (東大・理・植物)

植物の光形態形成における光受容体の一つであるフィトクロムは、分子量約12万のポリペプチドからなる2量体で、各モノマーは各々1個の共有結合した発色団(フィトクロモビルン)を含んでいる。[フィトクロムには2つのisoforms I, IIがある(安部ら, 本会要旨集)。ここでは、従来からよく研究されてきた、黄化植物に多く含まれるI型について述べる。] フィトクロムおよびそのmRNAの量は、暗所で生育した黄化植物に比較的多く、赤色光または白色光照射により著しく減少する(Colbertら1985)。単離核における *in vitro* run-off transcription も行なわれているが、果たして転写段階(だけ)が制御部位であるかについては明らかではない。本研究では、エンドウを材料として、ほぼ完全長のcDNAを得るとともに、フィトクロム発現の光調節を検討した。

〈材料および実験方法〉 アラスカエンドウ (*Pisum sativum* L. cv. Alaska) の種子をバーミキュライト上に置き、25°C、暗黒下または白色蛍光灯下(10W/m²)、7日間生育させた。黄化植物の上胚軸フック部、緑化植物の地上部頂部から、それぞれRNAを抽出した。ポリ(A)⁺ RNAは常法通り調製した。フィトクロムmRNAを電気泳動により部分濃縮し(昨年度本会発表)、cDNA合成の鋳型とした。ベクターとしてλgt11を用い、スクリーニングには、約0.7kbのフィトクロムcDNA部分クローン(pPPP1のEcoRI断片、富沢ら、1986)をプローブとして用いた。塩基配列は、化学分解法により解析した。

〈結果〉 黄化植物を材料とした2回のクローニングにより、多数のcDNAクローンを得たが、最長のものは約3.7kbのcDNAを含んでいた(A609)。これを含め、5クローンについて制限酵素地図を作成したところ、A609と同じタイプの4クローンの地に、切断部位の間隔が延びているA301が見出された。A609とA301の塩基配列を解析した結果、A609がフィトクロムmRNAに対応するほぼ完全長のcDNAであり、A301は、3か所に78~136bpの挿入配列を含むことが判明した。この挿入配列は、GT……AGというイントロンに特有の境界配列をもつことから、A301は、フィトクロムmRNA前駆体に対応するcDNAと推定された。

RNAブロットハイブリダイゼーションをおこなったところ、黄化植物では、約4.1kbを中心として高分子量側にひろがる濃いバンドが、緑化植物では、約4.6kbiにシャープでうすいバンドが検出された。これはプローブとしてpPPP1, A609のいずれを用いても同様であった。この結果は、フィトクロム転写産物には、2種類あり、4.6kb分子種は明暗にかかわらず存在するが、4.1kb分子種は暗所でのみ蓄積することを示している。

〈考察〉 cDNAクローンの解析結果に基づき、4.1kb分子種がフィトクロムmRNA、4.6kb分子種はその前駆体である可能性が考えられる。現在、フィトクロムmRNA量の光調節には、イントロンのスプライシングが関与しているという作業仮説を検証するために、いくつかの実験をすすめている。