

3Ap-5

ニホンナシ LHCP 及び RuBPC・SSu の cDNA クローンの単離と塩基配列解析

村上(嘉納) ゆり子¹・松岡信²・大橋祐子²・田中喜之³
山本直樹⁴・小関良宏⁵ (果樹試¹ 生物研² 農環研³ 林試⁴
東大・教養・生物⁵)

木本における分子レベルでの光合成研究は、草本のそれに比べて、著しく立ち遅れている。そこで、ニホンナシを用いて、LHCP (Light Harvesting Chlorophyll a/b Protein) 及び RuBPC・SSu (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase Small Subunit) の cDNA クローンを取り、その全塩基配列を決定して、今までに得られている他植物での知見と比較して、それらの蛋白の変異を検討した。

(方法) ニホンナシ(長十郎) 未展開葉を、液体窒素中で粉碎し、グアニジンチオシアネート法により抽出を行い、上清について、5.7M CsCl, 28,000rpm 24時間の平衡密度勾配遠心法を行い、全RNA画分を得た。これから、mRNAを抽出するために、オリゴ(dT)セルロースカラムクロマトグラフィーを行い、吸着画分を得た。このmRNAを鋳型として、Gubler-Hoffmanの方法により、cDNAを合成し、dG・dC tailingにより、発現ベクターpUC8につなぎ、Hanahanの方法によって*E. coli* JM83株に形質転換した。こうして得られたcDNAライブラリーから、*Lemna gibba* のゲノムクローンpLgAB19 (Stiekam et.al. 1983)をプローブとして、コロニーハイブリダイゼーションにより、ハイブリッド形成するクローンを得た。このcDNAクローンのうち、全鎖長を含むと思われる長さのインサートを持ったクローンについて、全塩基配列を決定した。また、RuBPC・SSuは、*Lemna gibba*のRuBPC・SSuの塩基配列をもとに作った合成プローブにより、ハイブリッド形成するクローンを得た。LHCPのクローンについても全鎖長を含むと思われる長さのインサートを持ったクローンについて、dideoxy法により全塩基配列を決定した。

(結果と考察) ニホンナシRuBPC・SSuのcDNAクローン (pChoSSu5188)の全塩基配列から、RuBPC・SSuは、前駆体として、分子量約20,500の蛋白と考えられ、他植物での塩基配列との比較から、Peaとは、約76%の相同性がみられ、*Lemna gibba*とは、約73%の相同性がみられた。従って、RuBPC・SSuは、ニホンナシにおいても、よく保存されていると結論できる。一方、LHCPについては、全長で、分子量約28,500と考えられる。Wheatとの相同性は、68%で高いが、Transit Peptideの部分の相同性は約40%で、成熟蛋白部分の相同性72%に比べて著しく低い。LHCPは、一般に、よく保存されていると考えられているが、ニホンナシにおいては、変異が認められ、成熟過程に違いがあることも考えられる。今回得られたcDNAクローンをもとにして、ニホンナシでもMultigene Familyを形成しているのか、また、Multigene Familyを形成していれば、それらのうちどのgeneが、主に発現しているか、あるいは、時期等により、その発現パターンが変わるかなど、発現の制御を検討したい。

3A

分
周
を
る
下
の
細
比
細
生
チ
て
こ
オ
P