

よび

3Ep-6

エンドウ・フィトクロムから限定酵素分解で得た種々の光学活性を示すクロモペプチドのアミノ末端アミノ酸配列の決定  
山本 興太朗・古谷 雅樹 (基生研・情報制御)

するフ  
ム II)  
も検  
半って  
ども  
反応  
で培養  
びに

フィトクロムを限定酵素分解すると、異なる光学活性を示す種々の大きさのクロモペプチドを調製することができる (Yamamoto & Furuya, 1983)。一方、Avena フィトクロム cDNA の全塩基配列が明らかになったため (Hershey et al., 1985)、各クロモペプチドのアミノ末端アミノ酸配列を調べることで、クロモペプチドの位置を一意的に決定できるようになった。本研究では、数種のフィトクロム・クロモペプチドのアミノ末端アミノ酸配列を調べ、フィトクロムの可逆的光変換を行なうことのできる発色団ドメインを同定する事を試みた。

エン  
培  
育さ  
査を  
た。

黄化エンドウ (*Pisum sativum* cv. Alaska) 芽生えから得た 114KDa フィトクロムをトリプシンによって限定酵素分解して 3 種のクロモペプチドを調製した (Yamamoto & Furuya, 1983)。各ペプチド標品を更に C<sub>8</sub> 結合型 (孔径 300Å) カラムを用いた逆相クロマトグラフィで精製し、そのアミノ末端アミノ酸配列を気相ペプチド・シーケンサーで測定した。逆相クロマトグラフィでは、試料を添加後、カラムを 40 度 C で 10% イソプロピル・アルコール、0.1% TFA を含む水から 10% イソプロピル・アルコール、0.1% TFA を含むアセトニトリルへの直線濃度勾配で展開した。114KDa フィトクロムはフェニル結合型 (孔径 1000Å) カラムを用いて同様の溶出液で展開したが、この場合は TFA の濃度を 0.02% にした。

粗抽  
ロム  
ムを  
吸着

114KDa フィトクロムと、それから得られる 3 種のクロモペプチドのアミノ末端アミノ酸配列を表に示した。これらはいずれも、塩基配列から推定される Avena フィトクロムのアミノ酸配列と平均 67% のホモロジーがあり、各アミノ末端アミノ酸残基に対応する Avena フィトクロムのアミノ酸残基を同定することができたので、それを括弧中に示した。

(I  
ラビ  
で、  
法を  
を用  
こは、  
台に

=====

| ペプチド   | アミノ末端アミノ酸配列   | 光変換型*                              |
|--------|---|------------------------------------|
| 114KDa | G S V D G D Q Q P X S N K V T (R <sub>53</sub> )                          | P <sub>r</sub> ←→P <sub>f</sub> r  |
| 62KDa  | V T T A Y L (V <sub>66</sub> )  | P <sub>r</sub> ←→P <sub>f</sub> r  |
| 38KDa  | V T T A Y L N H I Q R G K Q I Q P F G X<br>L L A L D E (V <sub>66</sub> ) | P <sub>660</sub> ←→P <sub>61</sub> |
| 26KDa  | L Q S L A S G S M E F L X D T M V Q E V<br>F E L T (I <sub>210</sub> )    | P <sub>660</sub> ←→P <sub>61</sub> |

-----

(X: 決定できなかったアミノ酸残基; \*: Yamamoto & Furuya (1983) より)

以上の結果、62KDa と 38KDa ペプチドは同じアミノ末端を持っていることから、62KDa ペプチドの内、発色団のある C<sub>322</sub> よりカルボキシ末端側のペプチド部分が P<sub>r</sub>-P<sub>f</sub>r 間の可逆的光変換に必須であると考えられる。また、114KDa フィトクロムは無傷のフィトクロムのアミノ末端部分が約 50 個欠けているフィトクロム断片であることも分かった。

ハ、I  
する  
I  
場合  
で吸  
の  
を受