

1Aa-6

コムギヒストンH3遺伝子の上流域に特異的に結合する核タンパク質

三上若司, 川田健文, 多羽田哲也, 岩淵雅樹(北大・理・植物)

遺伝子の転写開始は *cis*-acting sequence と *trans*-acting protein の特異的な結合により制御されていることが、動物遺伝子の研究により確かめられている。我々は、細胞分裂サイクルに依存して発現する植物遺伝子の転写制御機構の解明を目的として、コムギヒストンH3遺伝子の上流域に特異的に結合する核タンパク質の検出を試みた。

コムギ胚芽核より 0.4 M NaCl で可溶化される核抽出物を用いて、コムギヒストンH3遺伝子の上流域を含む HindIII-HinPI 断片 (-184 ~ +152) をプローブとしてモビリティ・シフト・アッセイを行った。非特異的な結合は、人工合成二本鎖 DNA である poly(dIdc)・poly(dIdc) を加えることにより吸収した。その結果、このプローブに特異的に結合する核タンパク質の存在が確認された。このプローブを FokI で切断することにより、HindIII-FokI 断片 (-184 ~ -130) と FokI-HinPI 断片 (-137 ~ +152) を得た。これらのプローブを用いて同様のアッセイを行。ところ、HindIII-FokI 断片にのみ特異的な結合が見られた。FokI-HinPI 断片は、多くの動物・植物のクラスII遺伝子に共通に存在する TATA box を含んでいるが、この断片に特異的に結合する因子は、胚芽核抽出物中には検出されなかった。

胚芽核抽出物を、フォスフォセルロースフロマトグラフィーにより、0.1 M, 0.35 M, 0.6 M 及び 1 M KCl で溶出される4つの分画に分けた。それぞれ分画を用いてモビリティ・シフト・アッセイを行ったところ、0.6 M KCl で溶出される分画にプローブと特異的に結合する活性が検出された。

コムギ芽生え核より、胚芽核同様 0.4 M NaCl 核抽出物を調製し、HindIII-FokI 断片を用いてアッセイを行った。この場合とこのプローブに特異的に結合する核タンパク質が検出された。芽生えをアフイディコリン・ブロックによりある程度同調化し、ブロック解除後のヒストンH3 mRNA 量の変動を Northern 法により調べた。その結果、解除後 1.5 時間、3 時間では mRNA 量が増加し、6 時間を減少していることがわかった。ブロック解除後 1.5 時間と 6 時間の芽生えより核抽出物を調製し、アッセイを行った。この場合、両抽出物中に HindIII-FokI 断片に特異的に結合する核タンパク質が共通に存在していた。

以上のことから、コムギヒストンH3遺伝子の上流 -184 ~ -150 の領域に特異的に結合する核タンパク質は、胚芽と芽生えの核中に共通に存在しており、また、芽生えでは、細胞周期においてヒストン mRNA 量が大きく存在する時期に特異的に存在するものではないことが明らかとなった。現在、胚芽核抽出物を用いて、このタンパク質が実際のどの部位に結合しているのかを検討中である。