

シアノバクテリア光化学系 I サブユニット遺伝子群の統一的光応答機構の解明

プロジェクト代表者：日原 由香子（大学院理工学研究科・助教）

高等植物、緑藻、シアノバクテリア等の酸素発生型光合成生物は、光化学系 II、光化学系 I の二つの光化学系複合体を介する電子伝達反応により、光エネルギーを化学エネルギーに変換して生命活動に利用している。これらの生物は、生育環境下において様々な光条件の変動に直面するが、その変動に応じて、柔軟に光合成系を作り変えることにより、光合成効率を最適化し、かつ生育阻害を回避することが知られている。具体的には、光捕集が律速となる弱光条件下では光化学系量の増加が見られ、光エネルギーが過剰となり有害な活性酸素分子種が生成するリスクの高まる強光条件下では、光化学系量の減少が見られる。我々はこれまでに、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 を実験材料として用い、光強度変化に応じて量が大きく増減するのは、二つの光化学系の内、光化学系 I であること、この調節に転写レベルでの制御が重要な役割を果たしていることを見出し、その分子機構の解明を目指すに至った。

光化学系 I を構成する 12 個のサブユニットの遺伝子（以後、系 I 遺伝子と略す）は、ゲノム上に分散して存在しているが、その発現レベルは光強度に依存した統一的管理を受けており、弱光下では豊富に蓄積している転写産物が、強光下に移すと 1 時間以内に完全に消失するほどの発現抑制が

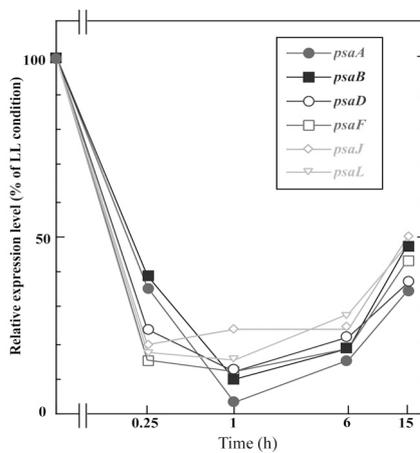


図 1. 光化学系 I 遺伝子の強光応答

横軸は強光下に映してから時間、縦軸は各遺伝子の転写産物量を弱光レベルを 100 として示した。

観察される（図 1）。我々は、この統一的光応答のメカニズムを解明する第一歩として、これまで系 I 遺伝子のプロモーター間に共通な調節領域の同定を進めてきた。その結果、コアプロモーター領域直上流（転写開始点より -70 から -45 塩基上流）に位置する AT リッチ配列が、弱光下でプロモーター活性を高く保つために必要であり、強光下に移すとこの配列を介した正の調節が一過的に失われるため、系 I 転写産物の一様な減少が実現されるということを見出した (Muramatsu M. and Hihara Y. (2007) J. Bacteriol. 189: 2750-2758)。また、いずれの系 I 遺伝子の AT リッチ配列中にも、high light regulatory 1 (HLR1) とよばれるモチーフ、(G/T)TTACA(T/A)(T/A)nn(G/T)TTACA(T/A)(T/A) が含まれることを見出した（図 2）。このモチーフは、これまでに強光応答性の遺伝子上流域に含まれることが報告されており、近年、RpaB と呼ばれる二成分制御系のレスポンスレギュレータータンパク質が結合することが示されている。

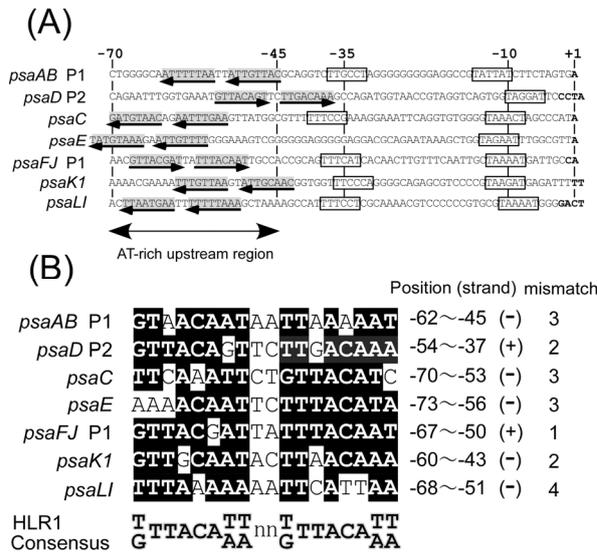


図2. 光化学系 I 遺伝子上流域の HLR1 モチーフ

(A) 各遺伝子の強光応答に関わる AT リッチ領域内に、正または逆向きの HLR1 配列が存在している (矢印で表示)。

(B) 各遺伝子の HLR1 モチーフと HLR1 コンセンサス配列との比較。

そこで、大腸菌内で大量発現・精製した RpaB タンパク質が、系 I 遺伝子の AT リッチ配列に結合するかどうかを、DNA ゲルシフトアッセイにより調べたところ、いずれの遺伝子においても RpaB タンパク質の結合がはっきりと確認された (図3)。

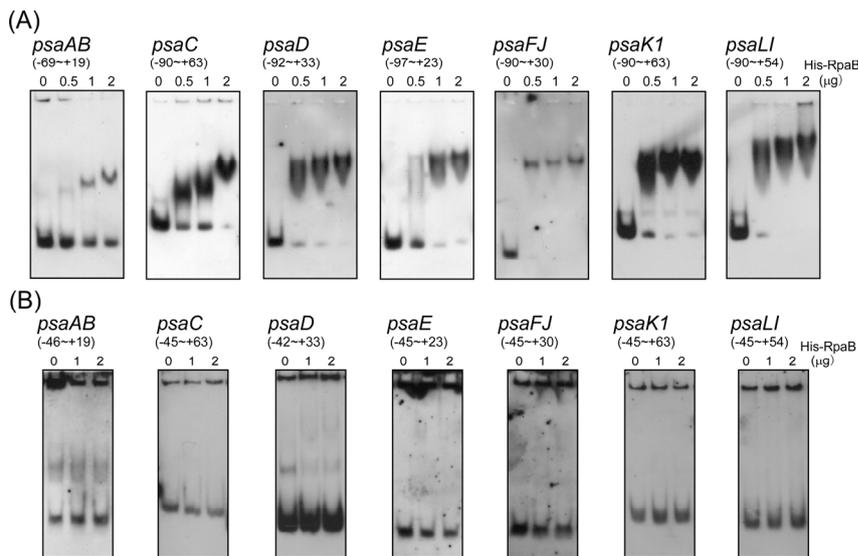


図3. 光化学系 I 遺伝子上流域への精製 RpaB タンパク質の結合

(A) 強光応答領域を含むプロモーター断片には RpaB の結合が観察される。

(B) 強光応答領域を含まない断片では、全く結合が観察されない。

また、HLR1 モチーフ中の4塩基を他塩基に置換した場合、結合は全く観察されなかったことから、RpaB タンパク質が HLR1 を認識していることが示された。また、*rpaB* 遺伝子の破壊株を作製し、系 I 遺伝子プロモーター活性を測定したところ、野生株に比べて弱光条件下での活性が著しく減少していることが観察された。このことは、RpaB タンパク質が弱光条件下で系 I 遺伝子上流の HLR1 モチーフに結合し、アクチベーターとして働いていることを強く示唆している。現在、この RpaB タンパク質に関連する実験結果をまとめ、Journal of Bacteriology 誌に投稿中である。なお、本研究の期間中に、「科学研究費補助金 若手研究 (B)」および「公益信託林女性自然科学者研究助成金」を獲得した。