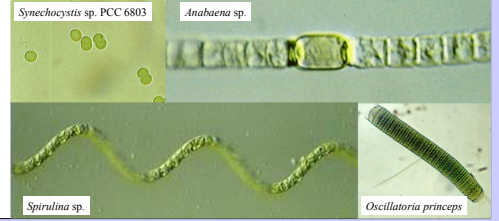


シアノバクテリア光化学系I サブユニット遺伝子群の統一的な光応答機構の解明

日原 由香子

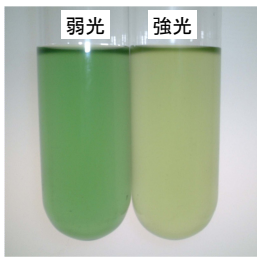
1. 研究材料(シアノバクテリア)の紹介

藍藻(ランソウ)、藍色細菌などと呼ばれることもあります。細菌の仲間ですが、植物と同様に酸素を発生する光合成を行います。地球の歴史上、酸素を最初に発生した生き物であり、この地球上に酸素が豊富にあるのはシアノバクテリアのおかげであると言えます。10数億年前には真核生物に細胞内共生して、それが植物の葉緑体の起源となりました。そのため、シアノバクテリアは葉緑体のモデル生物として、研究に広く用いられています。



2. 光の強さによって色が変わる?

シアノバクテリアの培養液の色は、培養に用いた光の強さによって大きく変わります。これはシアノバクテリアが、光の変化に応じて、細胞内にある、光を集めるためのタンパク質の量を調節しているためです。光合成は、二酸化炭素と水から、光エネルギーを用いて有機物を合成する反応なので、弱い光のもとで十分に光合成を行うためには、光を集めるタンパク質がたくさん必要です。

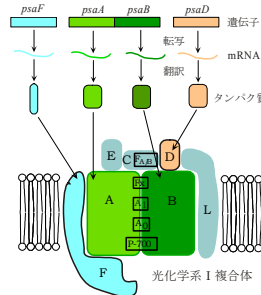


培養液中の細胞数は同じ

反対に、強い光のもとで光を吸収しすぎると、有害な活性酸素が生じて細胞内にダメージを与えてしまいます。そのため、光を集めるタンパク質の量を減らして、光合成をしすぎないように調節しているのです。私たちは、このような光の強さに応じての調節が、どのように行われているのか、そのしくみの解明を目指しています。

3. 光化学系I複合体ができるまで

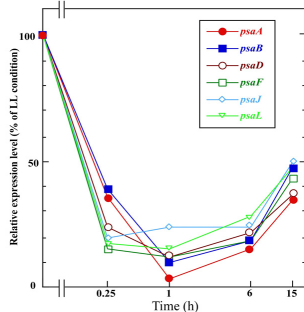
DNAに刻まれた遺伝子の情報が生物の形質として現れることを「遺伝子発現」といいます。遺伝子発現が起きるためには、まずDNAの持つ遺伝情報がmRNAに写し取られ(転写)、ついでmRNAの遺伝情報に基づいてタンパク質の合成が行われる必要があります(翻訳)。ここでは、光を集めるために重要なタンパク質複合体、光化学系Iがどのように作られるかを示しました。



いくつもの遺伝子が転写され、翻訳されて光化学系Iを構成するサブユニットタンパク質が出来上がり、それらが一つの複合体を作っています。シアノバクテリアの光化学系I複合体は、弱光下で増え、強光下で減りますが、私たちは転写レベルでの調節が、この現象に重要な役割を果たしていることを見出しました。

4. 光化学系Iサブユニット遺伝子群の光応答性

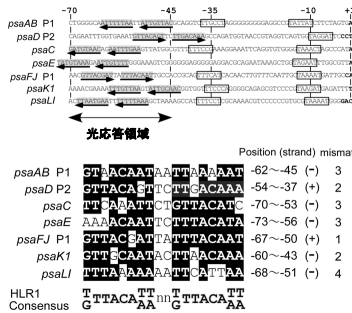
シアノバクテリアの細胞を、弱光から強光へ移した場合の、光化学系Iサブユニット遺伝子のmRNA量の変化をグラフで示しました。弱光下では光化学系I遺伝子から、活発に転写が行われ、その結果たくさんmRNAが蓄積していますが、強光下に移すと転写活性が厳しく



抑制され、mRNAは1時間以内に全く検出されなくなります。11個の光化学系Iサブユニットの遺伝子は、シアノバクテリアゲノム上の9カ所に分散して存在していますが、これらの遺伝子が皆、このような光応答パターンを示すのです。この統一的な転写調節のメカニズムは、一体どのようなものでしょう?

5. 光化学系I遺伝子プロモーターの光応答領域

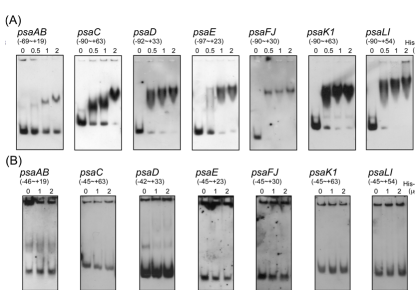
一般に「転写レベルでの調節」は、各遺伝子の直前に存在する「プロモーター領域」に、「転写調節因子」が結合し、転写を促進、または抑制することによって行われます。光化学系I遺伝子のプロモーター領域を削りこんで、どの部分が光応答に重要なのかを調べ



べたところ、転写開始点(+1)上流の-70から-46の領域が、いずれの遺伝子にとっても、弱光下での転写活性化に重要であることが分かりました。さらに、この領域に、HLR1と呼ばれる8塩基からなる反復配列が、正向き、または逆向きに含まれることを見出しました。

6. 光化学系I遺伝子プロモーターへの調節タンパク質の結合

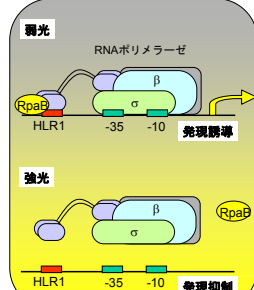
HLR1配列には、RpaBと呼ばれる転写調節タンパク質が結合する、という報告が存在するため、このタンパク質を大腸菌に大量に作らせ精製し、光化学系I遺伝子プロモーター領域へ結合するかどうか、「ゲルシフトアッセイ」という方法で調べました。光応答領域を含む遺伝子プロモーター断片へのRpaBの添加量を増やしていくと、(A)に



示すように、プロモーター断片とRpaBの複合体が形成され、バンドが上部にシフトします。一方、各プロモーター断片から光応答領域を削った場合には、(B)に示すように、RpaBの結合によるバンドシフトは全く観察されませんでした。

7. 光化学系I遺伝子の光応答メカニズム

以上の結果から、光化学系I遺伝子の光応答領域に、転写調節タンパク質RpaBが結合することが示されました。そこで、このタンパク質が実際に細胞内でどのように働いているのか調べるため、rpaB遺伝子破壊株を作製したところ、光化学系I遺伝子プロモーター活性の減少が、rpaB過剰発現株を作製したところ活性の増加が、それぞれ弱光下で観察されました。



光化学系I遺伝子の光応答領域に、弱光下でRpaBが結合して転写活性化に働くことが明らかになりました。強光下では、RpaBの結合が失われ、転写レベルが統一的に抑制されると考えられます。今後は、光強度の変化がどのようにRpaBに伝達されるのか、そのメカニズムを明らかにしていく予定です。