



平成 21 年 3 月 31 日  
千葉大学 大学院園芸学研究科

## 代謝酵素の関わる全く新しい光シグナル伝達系を発見 — 葉緑素の合成酵素がセントラルドグマの「転写」をコントロール —

### <研究成果の概要>

本学園芸学研究科の田中寛 教授、小山内崇 日本学術振興会特別研究員らの研究グループは、東京大学 池内昌彦 教授、かずさDNA研究所田畑哲之 博士、佐藤修正 博士、茨城大学 朝山宗彦 准教授らと共同で、光合成細菌（シアノバクテリア）において、葉緑素（クロロフィル）合成に関わる代謝酵素（マグネシウムキラターゼ）を介した、全く新しい光シグナル伝達系を発見しました。この成果は、特異的な光レセプターを介さない光シグナル伝達系である点、さらに代謝酵素のもつ代謝以外の機能であるという二つの点で新規性が高く、米国科学アカデミー紀要（Proceedings of National Academy of Science, USA）に2009年3月30日の週に電子版で公開されます（報道解禁：日本時間 平成21年3月31日午前8時）。

光合成生物にとって光はエネルギー源であり、生育環境の光状況に応じて代謝や遺伝子発現の状態を変化させることは、その生存のために極めて重要です。光を利用できる昼間には、光合成生物は光を用いて光合成を行い、炭酸ガスを同化して糖やデンプンなどを合成します。一方で光のない夜になると、光合成生物は昼間に貯めた糖を分解（異化）し、そこから得たエネルギーで生命をつなぎます。この際、昼と夜では代謝の方向が逆となるために、それに関わる酵素遺伝子の発現も切替える必要があります。今回研究グループは、光合成細菌であるシアノバクテリア<sup>(注1)</sup>において、明所から暗所に移した際に、糖を異化する酵素遺伝子の転写が誘導されることに注目、その分子機構の解析を行いました。

この研究以前に研究グループは、淡水産のシアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803株において、RNAポリメラーゼ<sup>(注2)</sup>の特異性を決めるシグマ因子<sup>(注3)</sup>の一つであるSigEが、糖の異化に関わる遺伝子群の活性化に関わることを明らかにしていました。明所から暗所に移すと、SigEの支配下にある糖異化遺伝子の転写が活性化されます。しかし、この際に細胞内のSigEタンパク質量には変化がありません。従って、この転写活性化はSigEの量が増えたことによるものではなく、SigEタンパク質が、何らかの分子機構により活性レベルで調節を受けていると考えられました。

タンパク質の活性調節は、多くの場合、タンパク質同士の相互作用により行われます。このような観点から研究グループは、酵母ツーハイブリッド法<sup>(注4)</sup>によりSigEタンパク質と結合するタンパク質を検索し、葉緑素（クロロフィル）合成系の代謝酵素であるマグネシウムキラターゼの H-サブユニット（ChIH）がSigE結合タンパク質であることをつきとめました。そして試験管内、細胞内での結合状態を調べたところ、ChIHの結合がSigEのシグマ因子としての活性を抑制すること。明所ではSigEと結合していたChIHが、暗所ではSigEと解離すること。さらに、このような結合・解離が細胞内のマグネシウム濃度により調節されていることが示されました。細胞内のマグネシウムイオンの濃度は、光が当たると高く、暗所では低く保たれることが知られており、これには光合成の明反応系が関わると考えられています。従って、明所では細胞内マグネシウムの濃度が高く、ChIHがSigEと結合することで、糖異化遺伝子の発現が抑制されている。暗所ではマグネシウム濃度が低下し、SigEがChIHから離れることで糖異化遺伝子の発現活性化が起こるというモデルを提唱することができました（図1）。

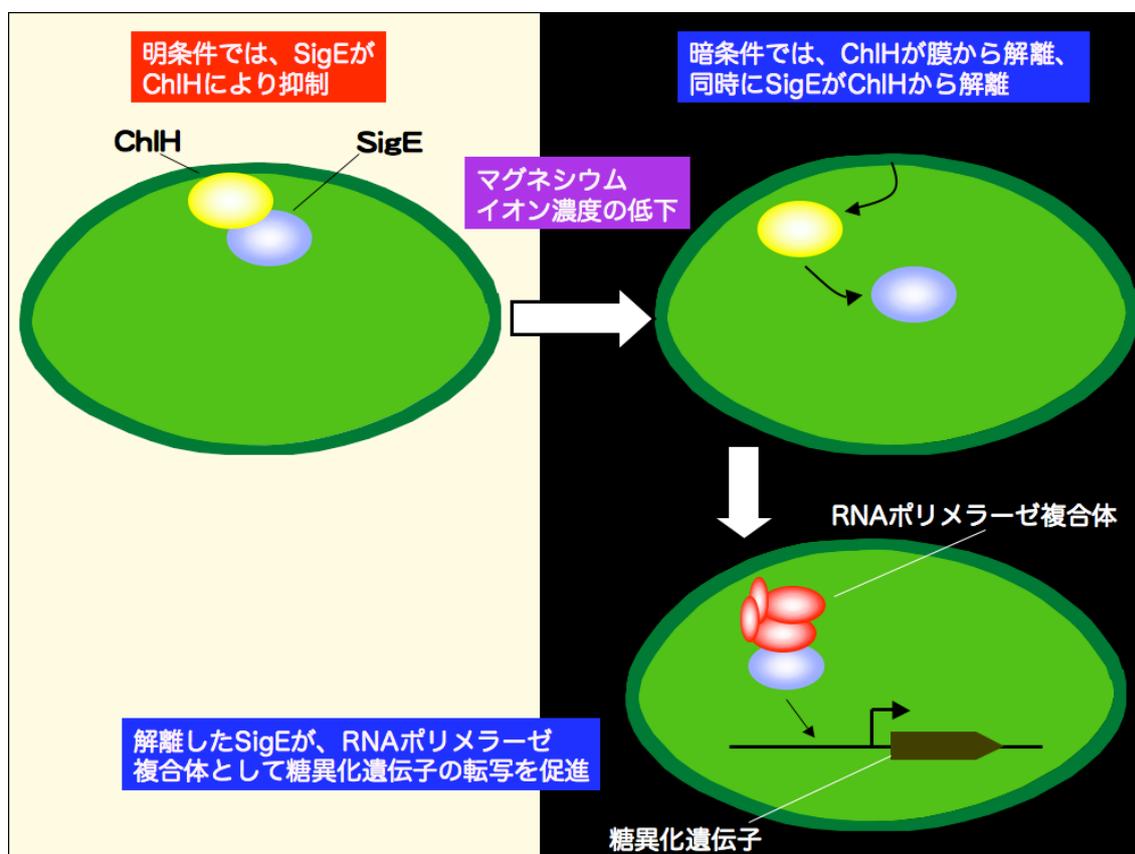


図1：光シグナルにตอบสนองした、ChIHによるSigE活性のコントロール

明条件下では、ChIHがSigEと結合し、SigEのシグマ因子としての活性が抑制されています。外界が暗くなると細胞内マグネシウムイオン濃度が低下し、ChIHが膜から解離するのと同時にSigEがChIHから解放されます。ChIHから離れたSigEはRNAポリメラーゼと複合体を形成し、糖異化遺伝子の転写を行うことができるようになります。

このChIHのように、シグマ因子に結合し、その結合状態の変化によりシグマ因子活性を調節するタンパク質は、アンチシグマ因子と呼ばれ、多くの例が知られています。しかし、ChIHのような主要な代謝酵素がアンチシグマとして機能する例は知られていませんでした。また、光による転写制御には特異的な光レセプターが関わりとされてきましたが、この例では、光合成の明反応系に光があたることがシグナル伝達を引き起こしており、光合成系と遺伝子発現の関連についての新規モデルを提唱するものといえます。

\*本成果の一部は、文部科学省科学研究費補助金 学術創成研究費（16GS0304）および JSPS 特別研究奨励費によって得られました。

#### <研究の背景と経緯>

転写とはDNAにコードされた遺伝子の配列情報に従ってRNAを合成する反応です。この転写反応に関わるタンパク質のうち、RNAポリメラーゼシグマ因子はゲノム上に存在するどの遺伝子が転写されるかの決定に重要な役割を担います。研究グループは以前に、淡水性シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803株のシグマ因子の一つ SigEが、糖異化遺伝子群の転写を正に制御することを明らかにしました。光合成生物にとって、糖異化は暗条件下での生存に必須であることが知られています。実際、SigEが欠損した変異株では、暗条件下での生存率が低下することが分かっています。このように、SigEは、暗条件下で重要な役割を果たすことがわかっていましたが、その活性を制御する機構は明らかになっていませんでした。

シグマ因子の活性制御の方法として、タンパク質間相互作用によるものがこれまでに知られています。そして、シグマ因子と直接結合して、その活性を抑制する因子のことをアンチシグマ因子と呼びます。アンチシグマ因子は腸内細菌などでは発見されていますが、酸素発生型の光合成を行う生物では、これまで発見されていませんでした。シグマ因子は、細菌だけでなく、藻類、植物といった真核細胞にも存在するため、光合成生物におけるアンチシグマ因子の存在の有無は、光合成生物における転写機構を明らかにする上でも、重要な課題でした。

#### <研究の内容>

研究グループは、酵母ツーハイブリッド法を用いてSigE結合タンパク質を探索したところ、葉緑素合成酵素系の代謝酵素であるマグネシウムキラターゼの H-サブユニット (ChIH)が、SigEと相互作用することを見いだしました。試験管内および細胞内でのSigEとChIHの相互作用を調べたところ、明条件下で両タンパク質が結合し、暗条件下で解離するという結果を得ました。また、この相互作用はマグネシウムイオンの添加により促進されることがわかりました。シアノバクテリアと同様の光合成を行う植物葉緑体の中では、明条件下でマグネシウムイオン濃度が高く、暗条件下で低いことが知られています。このことから、光シグナルがマグネシウムイオンを介してSigE活性を調節するという作業モデルを考えることができました。また、試験管内でRNAポリメラーゼ、SigE、ChIHおよび鋳型DNAを混ぜ、転写反応を再構成させたところ、ChIHが

SigEの転写を抑制することがわかりました。この結果より、ChIHはSigEのアンチシグマ因子であることが証明されました。代謝酵素のサブユニットが、アンチシグマ因子としてシグマ因子の活性を調節している例はこれまでになく、代謝酵素と転写の新しい関係の発見と言えます。

<今後の展開>

今回研究グループは、酸素発生型の光合成を行う細菌であるシアノバクテリアにおいて、葉緑素の合成酵素マグネシウムキラターゼの H-サブユニットChIHが、相互作用により、シグマ因子SigEの活性を抑制していることを明らかにしました。葉緑素の合成酵素が転写を制御する可能性は、すでに高等植物でも報告されていますが、そのメカニズムが明らかになったのは今回が初めてです。これらの結果を踏まえ、高等植物における葉緑素の合成酵素の転写への寄与を明らかにしていくことが今後重要です。また、代謝酵素による転写制御は、細菌、植物、動物、菌類でも見つかっており、このような代謝と転写の関係は、多くの生物に存在する普遍的な機構であると考えられます。光合成生物の代謝は、現在社会問題となっている地球の二酸化炭素増加と密接に関連しています。今回の研究成果は、光合成生物の代謝の新しい側面を明らかにするものであり、このような光合成生物の代謝制御機構の理解を通し、地球の温暖化メカニズムの解明へとつながる端緒となることを期待しています。

<掲載論文名および著者名>

'ChIH, the H subunit of the Mg-chelatase, is an anti-sigma factor for SigE in *Synechocystis* sp. PCC 6803'

(*Synechocystis* sp. PCC 6803において、マグネシウムキラターゼのH-サブユニットはRNAポリメラーゼシグマ因子SigEのアンチシグマ因子として機能する)

Proceedings of National Academy of Science, USA (online 版)

Takashi Osanai, Masahiko Imashimizu, Asako Seki, Shusei Sato, Satoshi Tabata, Sousuke Imamura, Munehiko Asayama, Masahiko Ikeuchi, and Kan Tanaka

(小山内 崇、今清水 正彦、関 麻子、佐藤 修正、田畑 哲之、今村 壮輔、朝山宗彦、池内 昌彦、田中 寛)

本件に関するお問い合わせ先  
田中 寛 (タナカ カン)  
千葉大学 大学院園芸学研究科 微生物工学研究室  
〒271-8510 松戸市松戸 648  
Tel : 047-308-8866 Fax : 047-308-8866  
E-mail : kntanaka@faculty.chiba-u.jp  
Mobile Tel: 090-5429-6798

## <用語解説>

### 注1) シアノバクテリア

藍藻（ラン藻）とも呼ばれるバクテリアの一分類群。植物と同様に酸素発生型の光合成を行い、真核細胞に細胞内共生することで、植物葉緑体の起源となったとされる。光合成による炭酸ガスの固定のみならず、一部の種は大気中の窒素を固定する能力をも持つ。富栄養化した湖沼において発生するアオコは、シアノバクテリアが大量に発生したものの。淡水、海水のみならず、土壌、温泉など、地球上の広い範囲に生息しており、地球上における炭酸ガスの固定、酸素発生に大きな役割を果たしている。形態的、生態学的にも多様であり、この研究で用いた *Synechocystis* PCC 6803 株は単細胞の球菌、2分裂で増殖する。

### 注2) RNA ポリメラーゼ

遺伝子 DNA にコードされた遺伝情報はまず RNA に写し取られるが、この段階は転写と呼ばれ、その RNA 合成を行う酵素が RNA ポリメラーゼである。バクテリアの RNA ポリメラーゼは、数種類のタンパク質の複合体からなり、生体内で様々な調節を受けることが知られている。

### 注3) シグマ因子

バクテリアの RNA ポリメラーゼに含まれるタンパク質で、転写を開始する段階で重要な働きをする。RNA ポリメラーゼが転写を行う遺伝子を決定する因子であるとされる。

### 注4) 酵母ツーハイブリッド法

酵母細胞を利用して、タンパク質間の相互作用を調べたり、特定のタンパク質に相互作用するタンパク質を検索したりする研究手法。GAL4 という転写因子を2つに分け、それぞれに相互作用を調べたいタンパク質を融合する。これらタンパク質間に相互作用があると、GAL4 が活性化されるという原理に基づく。