

藻類の光受容体 - 最近の知見から -

伊関峰生^{1,2,3}・渡辺正勝¹

光合成生物である藻類にとって、光はエネルギー源として重要なことはもちろん、発生・代謝・行動等の基本的な生命活動を制御する信号としても重要である。生物が光を制御信号として検知するためには、特定波長域の光を吸収する光受容体が必要であり、動物は主としてロドプシン類を、高等植物はフィトクロムやクリプトクロム等を様々な生命活動の光受容体として利用している。一方、藻類では多くの光応答現象が知られているにも関わらず、分子として光受容体が同定された例はこれまでごくわずかであった。近年、遺伝子工学的手法の発達やゲノム・プロジェクトの進展を背景に、藻類においても幾つかの光受容体の分子実体が明らかにされつつある。ここでは、筆者らがミドリムシで発見した新しい光受容体の話題 (Iseki *et al.* 2002) を中心に、最近のトピックスを概観してみたい。なお、藻類の光感覚全般については、優れた総説 (Hegemann *et al.* 2001; 片岡 2001; 川井 1999) があるので、それらを参照されたい。

光活性化アデニル酸シクラーゼ：ミドリムシの青色光受容体

単細胞鞭毛藻ミドリムシ (*Euglena gracilis*) は、光刺激に対して敏感に応答するため、古くより光感

覚のモデル生物として研究が行われてきた (Lebert 2001)。特に光驚動反応 (光の方向と無関係に、周囲の光強度の変化に応じて運動方向を転じる反応) は極めて顕著で、その作用スペクトルの解析から光受容体はフラビンを発色団として持つことが示唆されていた (Matsunaga *et al.* 1998)。さらに、眼点近傍の鞭毛基部にタンパク質性の膨らみ (paraflagellar body, PFB) を持ち、これが光受容部位であると考えられてきた (Colombetti *et al.* 1982)。

PFB を蛍光顕微鏡で観察するとフラビンに特徴的な緑色の自家蛍光を発することから、PFB に存在するフラビントタンパク質が光受容体の本体である事は容易に想像がつく。筆者らは PFB を効率よく単離することに成功し、さらに、それに含まれるフラビントタンパク質を精製することにも成功した。得られた約 400 kDa のフラビントタンパク質は約 105 kDa と約 90 kDa の 2 種類のサブユニットから成り、フラビンとして FAD を結合していることが示唆された。それぞれのサブユニットの一次構造は互いによく似ており、既知の FAD 結合領域を 2 箇所ずつ持つ他、それと互い違いに 2 箇所ずつのアデニル酸シクラーゼ触媒領域を持っていた (図 1)。アデニル酸シクラーゼは、信号伝達物質として多くの細胞機能の制御に重要な役割を果たす

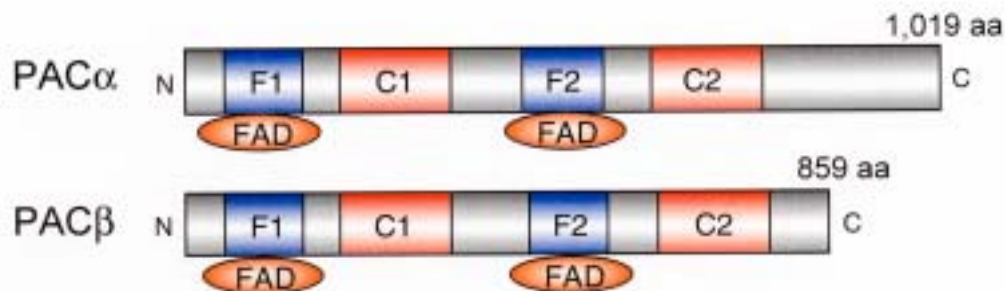


図1 光活性化アデニル酸シクラーゼ (PAC) のサブユニット模式図

約 105 kDa のサブユニット (PACα) と約 90 kDa のサブユニット (PACβ) はそれぞれフラビン結合領域 (F1, F2) とアデニル酸シクラーゼ触媒領域 (C1, C2) を 2 箇所ずつ持ち、フラビン結合領域では FAD を非共有結合しているものと推定される。

cAMP を生成する酵素である。精製されたフラビンタンパク質の酵素活性を測定してみると、確かに顕著なアデニル酸シクラーゼ活性が検出され、さらに青色光を照射することにより数十倍にも活性が上昇することが示された。すなわち、このフラビンタンパク質は、光で活性化されて信号伝達物質を直接作り出すという、従来全く知られていないユニークな酵素だったのである。そこで筆者らはこれを光活性化アデニル酸シクラーゼ (Photoactivated Adenylyl Cyclase, PAC) と名付けた。

PAC が実際にミドリムシの細胞内で光受容体として機能しているかどうかは、RNAi (田原 2001) により PAC の遺伝子発現を特異的に抑えることで以下のように確認された。PAC の配列に相当する二本鎖 RNA を合成し、エレクトロポレーションによってミドリムシ細胞に導入すると、ほとんどの細胞から PFB が消失してしまった。これらの細胞の光に対する応答を調べると、ステップアップ反応 (光が急に強くなった時に起こる光驚動反応。光から逃げる反応の素過程) を全く示さないことがわかった。一方、ステップダウン反応 (光が急に弱くなった時に起こる光驚動反応。光に集まる反応の素過程) は正常と変わらないことから、PAC は光回避反応の光受容体として機能していることが明らかとなった。

古細菌型ロドプシン：クラミドモナスの緑色光受容体？

「クラミドモナスの走光性受容体はロドプシンである」とするショッキングな論文が Nature 誌に掲載されたのは 18 年ほど前である (Foster *et al.* 1984)。その後、突然変異株とレチナル類似体を用いた光受容体再構成実験等により、クラミドモナスの走光性受容体の発色団はバクテリオロドプシンに代表される古細菌型のロドプシンと同様オールトランス型レチナルであり、これが 13-シス型へ光異性化されることによって反応が起こることが示された (Takahashi *et al.* 1991; Hegeman *et al.* 1991; Lawson *et al.* 1991)。一方、Deininger *et al.* (1995) はクラミドモナスの眼点近傍に存在するレチナル結合タンパク質を同定し、これをクラミドプシンと名付けたものの、そのアミノ酸配列には既知の

ロドプシン類に見られる 7 回膜貫通等の特徴がほとんどなく、これが真に光受容体であるかどうかについては疑問も残されていた。

最近になって、かずさ DNA 研究所とデューク大学からクラミドモナスの EST データベースが公開され、その中に古細菌型ロドプシンの特徴を備えた複数の配列が見出された (鈴木ら 2001; Hegemann *et al.* 2001)。これらは多くのロドプシン研究者の注目を集め、激しい競争のうちに機能解析が進められている。もしもこの古細菌型ロドプシンが光受容体として機能しているとすれば、クラミドモナスの走光性受容体は何かという古くからの問題に決着をつけるばかりでなく、ロドプシン類の進化という観点からも非常に興味深い。また、クラミドモナスでは高等植物の青色光受容体であるクリプトクロムやフォトトロピンの類似タンパク質も見出されており (Small *et al.* 1995; Onodera *et al.* 2002)、それらの機能解明も待たれる。

バクテリオフィトクロム：ラン藻の赤色・遠赤色光受容体？

光受容体の議論をする際、多くの生物ではまず光によって起こされる生理現象があり、その作用スペクトルから光受容体の実体を推定していくのが普通であったが、ラン藻の場合は少々様子が異なる。ラン藻は体制が単純であるがゆえに光による形態形成や運動の制御に関する生理学的研究があまり進まない一方、近年ゲノム解析が急激に進歩した結果、既知の光受容体に類似した遺伝子が機能未知のまま多数記載されることとなった。フィトクロムは従来真核生物のみに存在すると考えられていたが、ラン藻、さらには光合成を行わないバクテリアにも存在することが明らかにされ、これらはバクテリオフィトクロムと称されている (Davis *et al.* 1999)。バクテリオフィトクロムの機能は、補色適応の光受容体として同定されたラン藻 *Fremyella* の RcaE (Kehoe & Grossman 1996)、光合成装置の形成を制御するとされる共生菌 *Bradyrhizobium* の BrBphP (Giraud *et al.* 2002) を除いて不明のままである。また、*Synechocystis* sp. PCC6803 においてはクリプトクロムの類似遺伝子も見出されている (Hitomi *et al.* 2000) が、こちら

の機能も明らかになっていない。このような状況の中、光による細胞内 cAMP レベルの変動の解析 (Ohmori *et al.* 2002) や走光性の解析 (Choi *et al.* 1999; Yoshihara *et al.* 2000; Kondou *et al.* 2001; Wilde *et al.* 2002) が現在精力的に進められており、これらの遺伝子機能も遠からず明らかにされることであろう。

藻類は、その系統的多様性から推察されるように、光応答も多様であり、高等動物では見られない波長感受特性を示すものも少なくない。また、感じる波長域は同じであっても、ミドリムシのように、従来知られていたものとは全く異なる光受容体を有するものもあろうことは想像に難くない。徒に多様性を求めることに意味があるとは思われないが、光受容の分子機構という普遍的かつ困難なテーマに取り組むに当たっての有用な材料の宝庫であることは間違いなからう。今後さらに多くの藻類での光受容体解明が待たれる。

文献

- Choi, J. S. *et al.* 1999. Photomovement of the gliding cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803. *Photochem. Photobiol.* 70: 95-102.
- Colombetti, G., Lenci, F. and Diehn, B. 1982. Responses to photic, chemical, and mechanical stimuli. In: D. E. Buetow (ed.) *The Biology of Euglena* III. p. 169-195. Academic Press, New York.
- Davis, S. J., Vener, A. V. and Vierstra, R. D. 1999. Bacteriophytochromes: phytochrome-like photoreceptors from nonphotosynthetic eubacteria. *Science* 286: 2517-2520.
- Deininger, W. *et al.* 1995. Chlamyrodopsin represents a new type of sensory photoreceptor. *EMBO J.* 14: 5849-5858.
- Foster, K. W. *et al.* 1984. A rhodopsin is the functional photoreceptor for phototaxis in the unicellular eukaryote *Chlamydomonas*. *Nature* 311: 756-759.
- Giraud, E. *et al.* 2002. Bacteriophytochrome controls photosystem synthesis in anoxygenic bacteria. *Nature* 417: 202-205.
- Hegeman, P. *et al.* 1991. All-trans retinal constitutes the functional chromophore in *Chlamydomonas* rhodopsin. *Biophys. J.* 60: 1477-1489.
- Hegemann, P., Fuhrmann, M. and Kateriya, S. 2001. Algal sensory photoreceptors. *J. Phycol.* 37: 668-676.
- Hitomi, K. *et al.* 2000. Bacterial cryptochrome and photolyase: characterization of two photolyase-like genes of *Synechocystis* sp. PCC6803. *Nucleic Acids Res.* 28: 2353-2362.
- Iseki, M. *et al.* 2002. A blue-light-activated adenylyl cyclase mediates photoavoidance in *Euglena gracilis*. *Nature* 415: 1047-1051.
- 片岡博尚 2001. 走光性と光屈性. p. 17-39. 寺島一郎 (編) 朝倉植物生理学講座 5: 環境応答. 朝倉書店, 東京.
- 川井浩史 1999. 藻類の光運動反応. p. 127-135. 千原光雄 (編) 藻類の多様性と系統. 裳華房, 東京.
- Kehoe, D. M. and Grossman, A. R. 1996. Similarity of a chromatic adaptation sensor to phytochrome and ethylene receptors. *Science* 273: 1409-1412.
- Kondou, Y. *et al.* 2001. Equal-quantum action spectra indicate fluence-rate-response selective action of multiple photoreceptors for photomovement of the thermophilic cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *Photochem. Photobiol.* 73: 90-95.
- Lawson, M. A. *et al.* 1991. Retinal analog restoration of photophobic responses in a blind *Chlamydomonas reinhardtii* mutant. *Biophys. J.* 60: 1490-1498.
- Lebert, M. 2001. Phototaxis of *Euglena gracilis* - flavins and pterins. In: D. -P. H. H. (ed.) *Comprehensive Series in Photosciences 1: Photomovement*. p. 297-341. Elsevier, Amsterdam.
- Matsunaga, S. *et al.* 1998. Discovery of signaling effect of UV-B/C light in the extended UV-A/blue-type action spectra for step-down and step-up photophobic responses in the unicellular flagellate alga *Euglena gracilis*. *Protoplasma* 201: 45-52.
- Ohmori, M. *et al.* 2002. Regulation of cAMP-mediated photosignaling by a phytochrome in the cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *Photochem. Photobiol.* 75: 675-679.
- Onodera, A. *et al.* 2002. Analysis of phototropin-like gene of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol.* 43 (suppl.) s230.
- Small, G. D., Min, B. and Lefebvre, P. A. 1995. Characterization of a *Chlamydomonas reinhardtii* gene encoding a protein of the DNA photolyase/blue light photoreceptor family. *Plant Mol. Biol.* 28: 443-454.
- 鈴木武士ら 2001. クラミドモナスの古細菌型ロドプシン様蛋白質. 日本生物物理学会第39回年会講演予稿集 1P134.
- 田原浩昭 2001. 真核生物におけるRNAiとPTGS. 蛋白質核酸酵素 46: 2017-2024.
- Takahashi, T. *et al.* 1991. Photoisomerization of retinal at 13-ene is important for phototaxis of *Chlamydomonas reinhardtii*: simultaneous measurements of phototactic and photophobic responses. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 178: 1273-1279.
- Wilde, A., Fiedler, B. and Börner, T. 2002. The cyanobacterial phytochrome Cph2 inhibits phototaxis towards blue light. *Mol. Microbiol.* 44: 981-988.
- Yoshihara, S. *et al.* 2000. Novel putative photoreceptor and regulatory genes required for the positive phototactic movement of the unicellular motile cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803. *Plant Cell Physiol.* 41: 1299-1304.

(¹ 岡崎国立共同研究機構・基礎生物学研究所, ² 生物系特定産業技術研究推進機構, ³ 名古屋大学・遺伝子実験施設)