

藻類学最前線



吉川伸哉：藻類の青色光受容体について

藻類の青色光反応は、生理学的、形態学的研究によって細胞自体、オルガネラの光運動反応(photomovement)や光形態形成(photomorphogenesis)など数多く報告されている⁽¹⁾。光受容体の化学的な実体とシグナル伝達経路についての研究は極めて少ないのが現状である。本稿では近年の分子生物学的な手法の発達に伴い実体が解明されたミドリムシ(*Euglena gracilis*)の光運動反応における光受容体⁽²⁾と、クラミドモナス(*Chlamydomonas reinhardtii*)の光形態形成における光受容体⁽³⁾の2種類を紹介する。

1. ミドリムシにおける青色光受容体

ミドリムシを用いた光運動反応についての研究の歴史は長く、走光性(phototaxis)、光走速性(photokinesis)、光驚動性(photophobic response)の3つのタイプの反応が報告されている⁽⁴⁾。光受容体はミドリ色の自家蛍光を発するParaflagellar body (PFB)と呼ばれる鞭毛基部の膨らみにあると考えられており、その発光団としてフラビンとプテリンが推測されていたが、長年の間その実体は同定されていなかった。2002年に伊関らはミドリムシの細胞を破碎した後、密度勾配遠心法により高純度のPFB分画を調整し、そこに含まれるタンパク質をフラビンの蛍光を指標に分離、精製することによりPFBに局在する青色光受容体の同定に成功した。

ミドリムシで発見された新規の青色光受容体タンパク質、光活性化アデニル酸シクラーゼ (PAC)

ミドリムシの光受容体は、分子量が105 kDaと90 kDaのタンパク質がそれぞれ2量体ずつ結合したヘテロ4量体からなり、2種類のタンパク質はいずれも、光合成細菌 *Rhodospira rubra* の光合成活性遺伝子の調整因子として報告されたAppAのフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) 結合領域と類似したアミノ酸配列を含むことと、精製した発色団の化学的な性質からFADを発色団としてもつ光受容タンパク質であることが示された。このタンパク質のもう一つの大きな特徴はそれぞれのFAD結合領域のC末端側にアデニル酸シクラーゼ触媒領域を含むことである。アデニル酸シクラーゼはATPからcAMPの生成を触媒する酵素でありcAMP濃度の上昇は、細胞内の様々なプログラムを始動することとなる。ミドリムシの光受容タンパク質に含まれるアデニル酸シクラーゼの酵素活性が青色光照射により約80倍に上昇することから、ミドリムシで発見された光受容タンパク質は青色光照射で活性化が起こるアデニル酸シクラーゼ活性を有している特異なタンパク質であることが示され、ミドリムシの光受容体は光活性化アデニル酸シクラーゼ(photoactivated adenylyl cyclase : PAC)と名づけられた。

ミドリムシにおけるPACの役割

PACの機能解析はRNAiにより行われた。RNAiでPACの発現阻害を行ったミドリムシでは、光驚動反応の一つであるステップアップ反応(光が急に強く成ったときに起こる反応、光回避の素過程)が明らかに阻害された。そのようなミドリムシではノーザン解析でPACの発現が見られなくなるだけではなく、PFB自体が光学顕微鏡レベルでは確認されなくなり、鞭毛基部に見られるミドリ色の自家蛍光も失われた。これらのことによりPACはミドリムシのステップアップ反応における青色光受容体であることが解った。

青色光により引き起こされるcAMP濃度の上昇がさらになんらかの伝達経路を介し鞭毛運動を制御することが考えられ、そのシグナル伝達経路の解明に興味を持たれる。

その一方で、もう一つの光驚動反応であるステップダウン反応(光が急に弱く成った時に起こる反応、光集合の素過程)はPACの発現を阻害しても影響がないことが示され、ミドリムシの光驚動反応が異なる2つ(もしくはそれ以上)の受容体により制御されていることが示唆された。過去の生理学的な研究においても、ステップアップ反応とステップダウン反応とではUV-B/C領域の作用スペクトルに違いが見られるためそれぞれで異なった光受容体の存在が示唆されており⁽⁵⁾、生化学的、分子学的な手法を用いた伊関らの研究によりそのことが強く支持された。近い将来、ステップダウン反応の青光受容体が同定されることを期待する。

2. クラミドモナスの光形態形成における青色光受容体

クラミドモナスは窒素欠乏条件下において配偶子への分化が起こりその後接合、減数分裂の過程を経て4もしくは8個の娘細胞が接合子内に形成される。娘細胞は接合子の細胞壁を溶解し泳ぎ出す(発芽)。この有性生殖の過程の配偶子形成、接合能力の回復、接合子の発芽の3つの段階で光による制御が見られ、特に配偶子形成が370 nm(近紫外)と440 nm(青色)の光で制御されるため、配偶子形成に関与する青色光受容体の存在が予測されていた⁽⁶⁾。光が関与する3つの反応

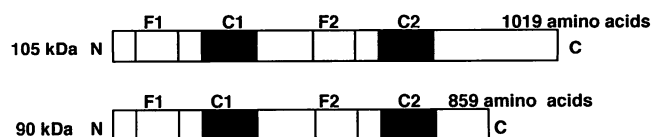


図1. PAC (photoactivated adenylyl cyclase)の構造的な特徴。105 kDaと90 kDaの両方で2つのフラビン結合領域(F1, F2)と2つのアデニル酸シクラーゼ触媒領域(C1, C2)領域を含む。参考文献(2)より改変。

の中で、接合能力の回復は短時間で起こりタンパク質合成を必要としないが、配偶子形成と接合子の発芽に関しては、光刺激受容後における遺伝子発現を伴うことが示されている。そのため緑藻クラミドモナスにおける青色光受容体の解析はその進化的な意味だけではなく、青色光受容体と遺伝子発現の制御という観点においても興味深い問題であった。クラミドモナスのEST解析から陸上植物で発見、同定された2種類の青色光受容体、クリプトクローム(cryptochrome)とフォトトロピン(phototropin)を持つことが既に報告されていたが、それらが実際にクラミドモナスの細胞内でどのような機能を果たしているかは解っていなかった。2003年にHuangらによりクラミドモナスの配偶子形成から接合、発芽の一連の過程においてフォトトロピンが青色光の受容体として機能しているという報告がなされた。

フォトトロピン (PHOT)

フォトトロピンはその名前からも解るようにシロイヌナズナにおいて光屈性 (phototropism) に関与する遺伝子として *PHOT1*が見い出された後⁽⁷⁾, *PHOT1*ホモログとして *PHOT2*が発見された。フォトトロピンはN末端側に発色団としてフラビンモノヌクレオチド (FMN) が結合している2ヶ所のLOV (light oxygen voltage) 領域とC末端部分のセリントレオニンキナーゼ領域から構成されている。その後の研究により、シロイヌナズナにおいてフォトトロピンは光屈性以外にも青色光による葉緑体の光定位運動や気孔の開口にも関与していることが示された。フォトトロピンは動物ではその存在が報告されていない一方で、複数の陸上植物でフォトトロピンのホモログ遺伝子が発見され、藻類においてもクラミドモナスに相同の遺伝子が存在するという報告がなされた⁽⁸⁾。

クラミドモナスにおけるフォトトロピンの役割

クラミドモナスにおけるフォトトロピンの機能解析には、前述のミドリムシと同様にRNAiが用いられた。クラミドモナスではフォトトロピンを完全に欠く変異体は致死になってしまうためRNAiによりフォトトロピンの発現量が減少した株を選ぶことにより解析が行われた。フォトトロピンの発現量を減少させた株では、配偶子分化に顕著な阻害が見られ、さらに配偶子形成過程において転写量の増加が起こることが知られている *GLE* (Gametes lytic enzyme) 遺伝子の転写も抑制された。この結果からこれまで遺伝子としてはその存在が知られていたクラミドモナスのフォトトロピンが初めて青色光の受容体として機能していることが確かめられた。また配偶子分化の阻害と同様に、フォトトロピンの発現量の減少により配偶子の接合能力の回復、接合子の発芽においても光の効果が低下していることが示された。これらのことから異なった3種類の光形態形成の光受容体がフォトトロピンであることが示された。

さて、次に問題に成るのが共通の光受容体で感受した青色光の刺激がどのようなシグナル伝達経路を経て配偶子形成や接合子の発芽といった異なった現象に結び着くのか? という

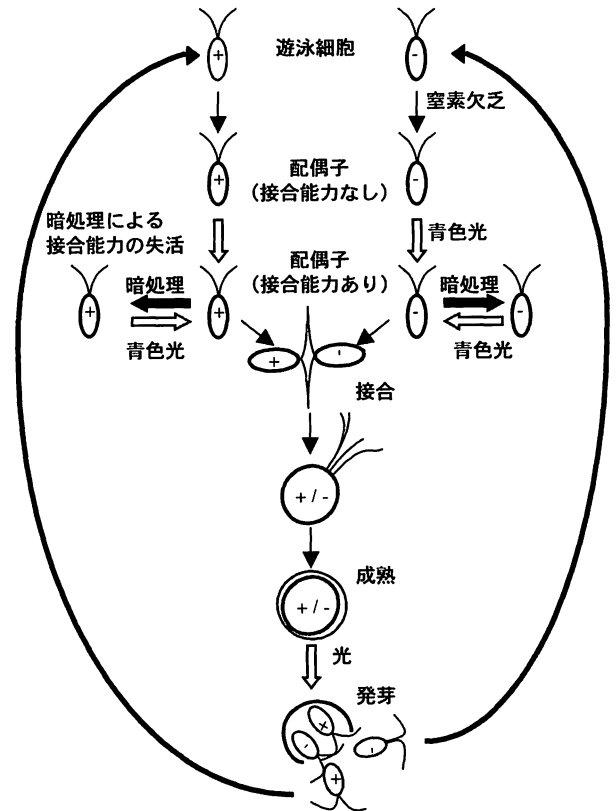


図2. クラミドモナス (*C. reinhardtii*) の生活環と光形態形成。白抜き矢印で示された各段階でフォトトロピンの関与が見られた。参考文献(3)より改変。

疑問と、陸上植物に於いてもいまだ不明瞭な細胞内におけるフォトトロピンの局在についてである。残念ながらこれらの2点についてまだ明確な結論に至っていないが、シグナル伝達に関しては、変異体 *lrg* (light regulation of gametogenesis) を用いた研究から少なくとも *LRG 4* 遺伝子は配偶子形成と発芽の両方に関与していることが示されているため⁽⁹⁾ フォトトロピンの光受容により生じるシグナル伝達経路の内の幾つかは配偶子形成と発芽の双方に共通していることが推測される。フォトトロピンの局在については unpublished data ながらフォトトロピンが細胞体だけではなく鞭毛においても見られたことが述べられており、鞭毛凝集とフォトトロピンの関係についても今後の研究に興味を持たれる。

今回ミドリムシの光運動反応とクラミドモナスの光形態形成の青色光受容体について報告した論文を紹介させて頂いた。藻類では多岐の分類群において光運動反応や光形態形成の報告がなされており藻類を用いた研究により新たな青色光受容体の発見が期待される。

参考文献

- (1) Watanabe, M. CRS Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology. (eds. In Horspool, W. M. et al.) CRC press, Boca Raton, pp.1276-1288. (1995).

- (2) Iseki, M., Matunaga, S., Murakami, A., Ohno, K., Shiga, K., Yoshida, K., Takahashi, T., Hori, T. & Watanabe, M. *Nature* 415: 1047-1051. (2002).
- (3) Huang, K. & Beck, C. F. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 6269-6274.
- (4) Lebert, M. *Photomovement* (eds Häder, D. -P. & Lebert, M.) Elsevier, Amsterdam, pp. 299-326. (2001).
- (5) Matunaga, S., Hori, T., Takahashi, T., Kubota, M., Watanabe, M., Okamoto, K., Masuda, K. & Sugai, M. *Protoplasma* 201: 45-52 (1998).
- (6) Weissing, H. & Beck, C. F. *Plant Physiol.* 97: 118-121 (1991).
- (7) Huala, E., Oeller, P. W., Liscum, E., Han, I. -S., Larsen, E. & Briggs W. R. *Science* 278: 2120-2123 (1997).
- (8) Huang, K., Merkle, T. & Beck, C. F. *Physiol. Plant.* 115: 613-622 (2002) .
- (9) Gloeckner, G. & Beck, C. F. *Genetics* 141: 937-943 (1995) .

(岡崎国立共同研究機構・基礎生物学研究所
・培養育成研究施設)