

二酸化炭素による転写調節機構

緑藻クラミドモナスの CO₂ 濃縮機構

福澤秀哉・山野隆志

二酸化炭素は光合成の基質であるがゆえ、その欠乏は植物の生存にかかわる重要な環境因子である。緑藻クラミドモナスは、トウモロコシなどとは異なり、弱い光のもとでも CO₂ を炭酸固定酵素の近傍に輸送・濃縮する機構をもつ。この CO₂ 濃縮機構は、CO₂ 濃度が低下すると誘導され、上昇すると抑制されるので、CO₂ 濃度の感知ならびに CO₂ による遺伝子発現制御機構を解明するのに最適な現象である。近年、ゲノム科学的ツールが整備されてきたクラミドモナスでの CO₂ 濃度の感知機構と、新しくみつかった CO₂ 依存性の転写因子について解説する。

Key words 緑藻クラミドモナス 光合成 転写因子 炭酸脱水酵素 二酸化炭素

はじめに

二酸化炭素(CO₂)は、地球温暖化問題でとりあげられることがあるものの、多くの人はビールを飲むときぐらいしかそれを意識することはないだろう。しかし、CO₂ は呼吸・光合成を含むさまざまな生体反応に重要な役割を果たしている。細胞は CO₂ 濃度を感知し、その濃度変化を情報としてとらえ遺伝子の発現や代謝を調節している。最近では、CO₂ の濃度変化に応答する遺伝子や、CO₂ 濃度の感知にかかわる因子の研究が進んできた。ここではまず、生物の CO₂ に対する応答反応の例をあげ、つぎに、光合成研究のモデル生物のひとつ緑藻クラミドモナスにおける CO₂ 応答性遺伝子とその転写調節因子の発見について述べる。

I. 生物における CO₂ の存在状態と細胞の CO₂ に対する応答反応

CO₂ は水に溶解するだけでなく、水分子と反応してプロトン(H⁺)と重炭酸イオン(HCO₃⁻)を生成する。また、溶液の pH や温度・圧力に依存してこの平衡は移動す

る。たとえば、アルカリ性溶液中では平衡が右に移動し、CO₂ は重炭酸イオンとして水により多く溶解する。



この反応を触媒する炭酸脱水酵素(EC4.2.1.1)は、微生物から動物・植物まで広く分布している。

CO₂ 濃度変化に対する応答は種々の生物で知られている。たとえば微生物では、炭疽菌の毒素蛋白質をコードする遺伝子群の転写レベルが、CO₂ 濃度を大気条件(0.04%)からヒト体内レベルの5%に移すことで5~20倍にも増大する¹⁾。

雌雄同株の多くの植物は自家不和合性によって自花受精を避けている。この自家不和合性とは、雄雌両生殖器官が成熟しているにもかかわらず、同株内では受精が行なわれても受精ができない現象であり、S 複対立遺伝子系の1遺伝子座で制御されている²⁾。ところが、この自家不和合性は植物を4%CO₂を含む空気にさらすだけで失われてしまう。柱頭由来 EST を用いた DNA マイクロアレイ解析から、自家不和合性決定遺伝子 SLG (S-locus-specific glycoprotein)を含む約2%の遺伝子の発現レベルが、CO₂ 濃度の上昇によって抑制されることが

Hideya Fukuzawa, Takashi Yamano, 京都大学大学院生命科学研究科 統合生命科学専攻遺伝子特性学分野 <http://chlamy.pmb.lif.kyoto-u.ac.jp/>

Mechanism of CO₂-responsive transcriptional regulation in photosynthetic organisms: Carbon-concentrating mechanism in a green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*

明らかとなった。そこで、*SLG* 遺伝子の発現抑制が自家不和合性の消失をひき起こす可能性が考えられている³⁾。

CO_2 はヒトの生殖にも関与している。アルカリ性の水中では CO_2 は水と反応して HCO_3^- になり、平衡が HCO_3^- 側に移動する。 HCO_3^- 濃度の上昇は精子の運動能力の活性化を促すことが知られていたが、 HCO_3^- は精子の受精能獲得を仲介することで受精に関与している⁴⁾。近年になって、アデニル酸シクラーゼの活性が HCO_3^- に依存することが示され、アデニル酸シクラーゼ自身が HCO_3^- センサーである可能性が示された⁵⁾。

このように、 CO_2 は生物のさまざまな現象にかかわるが、その濃度変化がどのような分子によってとらえられ、いかに下流の遺伝子に伝えられるのかは知られていない。筆者らは、緑藻クラミドモナスにおける低 CO_2 ストレスに対する順化に注目し、 CO_2 濃度の感知から転写制御系の解明をめざしている。

II. 緑藻クラミドモナスにおける CO_2 濃縮機構

クラミドモナス *Chlamydomonas reinhardtii* は、畑の土壌中や湖水中に生息する淡水性の単細胞緑藻の一種で、標準株が確立し、これまでも光合成、光受容、生殖、(母性)遺伝などの研究に使われてきた(図1)。葉緑体 DNA (196 kb) が最初に発見され、その形質転換が最初に報告された生物でもある。近年では、世代時間が5時間と短く培養が容易である点、突然変異株とゲノム配列情報が利用できる点などが注目されているが、そのほかにつぎのような特長ももつ。①光合成できない株も酢酸があれば生育するので変異株の単離が容易である、②簡便な形質転換法により遺伝子タギングが可能である、③雄雌の掛け合わせで四分子が得られるので遺伝解析が可能である、④EST 情報とゲノム情報が蓄積しつつあり遺伝子の同定が容易になってきた、⑤核や葉緑体で働くレポーター遺伝子(*GUS*, *ARS*, *GFP* など)がある、⑥植物性鞭毛虫でもありヒト精子のモデル生物として基礎医学研究分野で利用されている。

光合成における炭酸固定の部分に注目すると、植物は C_3 植物、 C_4 植物、および多肉植物型光合成(CAM)植物に分類される。地球上の植物の90%以上は C_3 植物に属し、カルビン回路で大気中の CO_2 を固定して炭水化物へと変換する。しかし、炭酸固定酵素であるリブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ(Rubisco)がオキシ



図1 緑藻クラミドモナス

細胞を水銀固定し、プロモフェノールブルーで染色して顕微鏡観察した。バーの長さは10 μm 。オレンジ色に光る眼点、青く染色された葉緑体のなかのピレノイド、1個の巨大な葉緑体が観察できる。

[文献13より許可を得て転載]

ゲナーゼ活性ももつため、過剰なエネルギーを光呼吸によって消去する必要がある、そのため C_3 植物の光合成効率は高くはない。一方、トウモロコシなどの C_4 植物は、 C_4 回路で CO_2 を濃縮することによって強光条件下で高い光合成能を示す。これに対して、水中に生息するクラミドモナスは、5% CO_2 を含む空気(高 CO_2 条件)を通気すると C_3 植物型の光合成特性を示すが、大気レベルの0.04% CO_2 濃度(低 CO_2 条件)で生育させると弱光でも CO_2 に対し高い親和性を示す。1980年にBadgerらによって、クラミドモナスが光エネルギーを用いて細胞外から能動的に無機炭素を細胞内に蓄積し、Rubisco周辺に CO_2 を濃縮することが初めて示され、無機炭素濃縮機構(carbon-concentrating mechanism; CCM)と名づけられた⁶⁾。この無機炭素濃縮機構はつぎの4ステップからなる。①細胞質への無機炭素の輸送、②葉緑体内への無機炭素の輸送、③ストロマへの HCO_3^- の蓄積、④チラコイドに局在する炭酸脱水酵素 CAH3 による HCO_3^- から CO_2 への変換、である(図2)。この無機炭素濃縮機構は CO_2 欠乏条件で誘導されることから、細胞には CO_2 濃度の感知機構と無機炭素濃縮機構の調節機構、ならびに CO_2 シグナル伝達経路が存在すると考えられる。したがって、クラミドモナスは CO_2 センサーや CO_2 シグナル伝達因子を同定するのに適した生

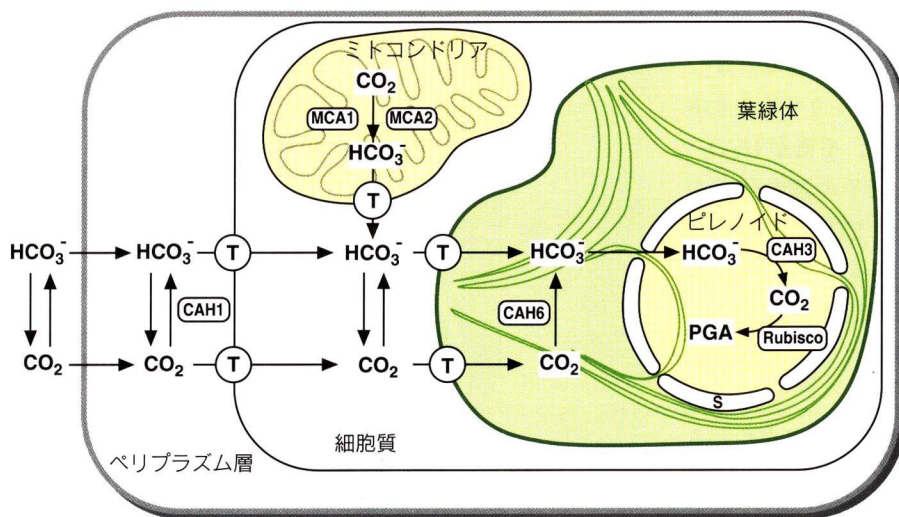


図2 無機炭素濃縮機構

細胞外の無機炭素(CO_2 や HCO_3^-)が CO_2 濃縮機構によって細胞内に能動的に輸送され、Rubiscoにより固定されるまでの流れを示した。クラミドモナスでは複数種の炭酸脱水酵素(CAHまたはMCA)が同定されているが、図中Tで示した CO_2 輸送体や HCO_3^- 輸送体の実体はまだ明らかになっていない。ピレノイドのまわりを取り巻いているデンプン殻をSで示した。PGA：ホスホグリセリン酸。

物といえる。

クラミドモナスは、核ゲノムへの形質転換では相同組換えが起こらず、選択マーカー遺伝子をもつDNA断片は核ゲノム中にランダムに挿入される。マーカー遺伝子が挿入されたタグ部分を調べれば、破壊された遺伝子が特定できる。筆者らは、 CO_2 の濃度変化に应答できないクラミドモナス変異株をこの遺伝子タギング法により単離し、その変異原因遺伝子を明らかにすれば CO_2 シグナル伝達の機構が明らかにできると考えた。すでに単離していた CO_2 要求性変異株に加えて、レポーター遺伝子を用いた新しいスクリーニングで得た変異株を解析することで、無機炭素濃縮機構が誘導される過程において CO_2 に应答する新奇転写因子の実体を明らかにした。

III. 調節因子CCM1による CO_2 欠乏誘導性遺伝子の発現調節

CO_2 欠乏環境への変化に伴って無機炭素濃縮機構が誘導されるが、それに伴い多くの無機炭素濃縮機構関連遺伝子が発現誘導される。炭酸脱水酵素をコードする*Cah1*遺伝子⁷⁾や*Mca*遺伝子⁸⁾、光呼吸酵素をコードする*Pgp1*遺伝子⁹⁾や*Aat1*遺伝子¹⁰⁾、葉緑体膜蛋白質をコードする*Ccp*遺伝子¹¹⁾が、これまで CO_2 欠乏誘導性遺伝子として報告されている。これらの遺伝子群は CO_2 欠乏条件に移してから1時間程度で誘導されるが、その発現調節を行なう調節因子はこれまで単離されていなかった。そこで、 CO_2 欠乏条件でも無機炭素濃縮機構を誘導せず、高 CO_2 要求性の表現型を示すクラミドモナス変異

株*ccm1*株を単離し、その原因遺伝子を同定した¹²⁻¹⁵⁾。

ジンクフィンガードメインをもつCCM1蛋白質は CO_2 の濃度条件にかかわらず恒常的に発現していることから、CCM1はなんらかの修飾を受けることでほかの蛋白質と相互作用し、 CO_2 濃度の変化を伝達していると考えられている。

CCM1を経由した CO_2 シグナル伝達経路の下流にある遺伝子を網羅的に明らかにするため、 CO_2 過剰条件と CO_2 欠乏条件での発現プロファイル、さらに、野生株と*ccm1*株の CO_2 欠乏条件での発現プロファイルを比較し、転写レベルでの発現誘導が CO_2 欠乏依存性を示す遺伝子群、ならびにCCM1依存性を示す遺伝子群を明らかにした。細胞を CO_2 欠乏条件に移して1時間以内に、*Cah1*遺伝子など既知の CO_2 欠乏誘導性遺伝子をすべて含む51個の遺伝子が誘導された。さらに、*Ccm1*欠損株では51個の CO_2 欠乏誘導性遺伝子のうち47個が転写レベルで減少し、残る4個も発現が低下していた。したがって、CCM1は CO_2 欠乏誘導性遺伝子のすべてを調節するマスター因子であることが判明した¹⁶⁾(図3)。CCM1は既知の蛋白質とまったく相同性を示さないため、N末端に唯一保存されているジンクフィンガーモチーフがシグナル伝達に重要な機能をもつことが示唆される。このジンクフィンガーの機能、ならびにCCM1と相互作用する因子の解明が待たれる。

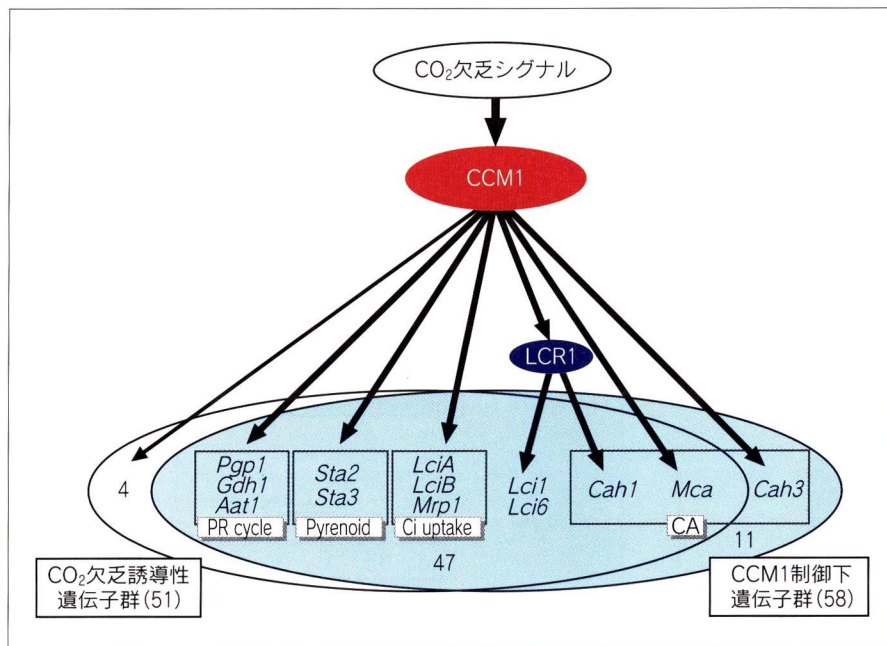


図3 CCM1を介したCO₂欠乏誘導性遺伝子群の調節

CCM1はCO₂欠乏シグナルを伝達し、多くのCO₂欠乏誘導性遺伝子群を調節する。これらのなかには、炭酸脱水酵素遺伝子(CA)、無機炭素輸送体遺伝子(Ci uptake)、光呼吸関連遺伝子(PR cycle)、ピレノイド殻デンプン合成遺伝子(Pyrenoid)が含まれる。また、CCM1はCO₂欠乏条件下で誘導されない11の遺伝子群も調節している。

[文献16を改変、許可を得て転載]

IV. CO₂欠乏誘導性転写因子LCR1による発現調節

1. *lcr1* 変異株の単離と *Lcr1* 遺伝子の同定

CO₂欠乏誘導性遺伝子のひとつに、ペリプラズム局在性の炭酸脱水酵素をコードする *Cah1* 遺伝子がある¹⁷⁻¹⁹⁾。*Cah1* 遺伝子の発現はCO₂欠乏条件下において引き起こされ、CO₂過剰条件下で抑制される。また、恒常的に発現しているCCM1に依存し、蛋白質合成阻害剤シクロヘキシミドにより阻害される。したがって、*Cah1* 遺伝子の発現にはCO₂欠乏より引き起こされる新たな *de novo* 蛋白質合成が必要であることが推測された。そこで、*Cah1* 遺伝子の発現調節変異株のスクリーニング法を考案した。

クラミドモナスの核ゲノムはGC含量が高くコドン使用頻度が大きく偏っていることにより、高等植物で広く利用されている *GUS* などのレポーター遺伝子が発現しないため、レポーターとしてはクラミドモナス自身のアリスルファターゼ遺伝子 *Ars* が利用されている。芳香族化合物から硫酸イオンを遊離するARSはペリプラズム層に輸送されるので、細胞の破碎を行わず培養液を発色基質と反応させるだけで容易に活性を測定することができる。Davisらにより、プロモーター領域が除かれた *Ars* 遺伝子や²⁰⁾、 β_2 -チューブリン最小プロモーター

の下流に連結された *Ars* 遺伝子を含んだコンストラクトが作製されており²¹⁾、プロモーター領域の解析に利用されている²²⁻²⁵⁾。そこでまず、CO₂応答に必要な *Cah1* 遺伝子上流域と *Ars* 遺伝子の融合遺伝子をもつ株 Q304P3 株 (*PRO^{Cah1}:Ars*, *nia1-305*, *cw15*, *mt*⁻) を作製した。この株に硝酸還元酵素遺伝子 *Nia1* を保持するプラスミドDNAを形質転換により導入すると、硝酸還元能が回復し形質転換体を選抜できる。ゲノムに *Nia1* 遺伝子断片がランダムに挿入されることで、*Cah1* 遺伝子のCO₂応答性を失った株を *Ars* 遺伝子の活性を指標にしてスクリーニングした。この活性を指標とし視覚的に発現調節変異株をスクリーニングするのが可能となったことで、多数の調節変異株を得ることができた。そして、得られたタグラインのなかから、CO₂欠乏条件下でも *Ars* 遺伝子活性がみられない *Cah1* 遺伝子調節変異株 *lcr1* (low-CO₂ stress response) 株を単離した²⁶⁾ (図4)。

lcr1 株のタグ挿入は1カ所であり、表現型はタグに用いた *Nia1* 遺伝子と連鎖していたので、タグ遺伝子に隣接するゲノム領域の配列を決定することで原因遺伝子を同定した。変異原因遺伝子 *Lcr1* は602アミノ酸残基の水溶性蛋白質をコードし、N末端領域にMyb-DNA結合ドメインをもっていた。また、C末端側には転写因子に特徴的なグルタミン残基、ヒスチジン残基、プロリン残基に富む領域が存在するが、既知の蛋白質とはまったく相同性を示さなかった。

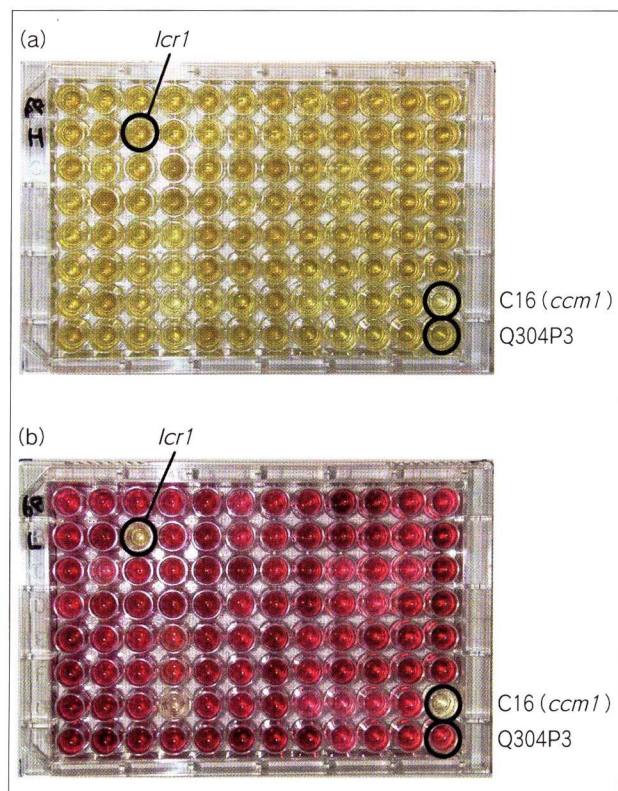


図4 レポーター遺伝子を利用した調節変異株 *lcr1* の単離
Cah1 遺伝子上流域を連結した *Ars* 遺伝子は、CO₂ 過剰(高CO₂)条件では抑制されるので宿主株の培養液は発色しない(a)。一方、CO₂ 欠乏(低CO₂)条件に移すと *Ars* 遺伝子の発現は誘導され、アリルスルファターゼ活性が上昇して反応基質が分解されて培養液は赤く発色する(b)。このレポーター遺伝子を用いたスクリーニング系により、CO₂ 欠乏条件下でも発色しない変異株 *lcr1* を単離した。

[文献 26 より許可を得て転載]

2. *Lcr1* 遺伝子の発現パターンとそのターゲット遺伝子

調節因子として見いだした遺伝子 *Lcr1* の発現はCO₂ 応答性をもつのだろうか。また、*Cah1* 遺伝子の発現に *Lcr1* 遺伝子はどの程度必要なのだろうか。この問いに答えるため、野生株と *lcr1* 変異株をCO₂ 過剰条件からCO₂ 欠乏条件に移し、CO₂ 欠乏ストレスを与えて *Cah1* 遺伝子と *Lcr1* 遺伝子の発現を調べた。*Lcr1* 遺伝子の mRNA はCO₂ 欠乏条件に移して1時間後に検出され、2時間後にピークに達したのちも8時間後まで発現レベルを維持していた。この発現パターンは、*Lcr1* 遺伝子の調節下にある *Cah1* 遺伝子の発現パターンと一致していた。一方、*lcr1* 変異株においては、*Cah1* 遺伝子は一過的に発現するが、その発現レベルは野生株と比べて著

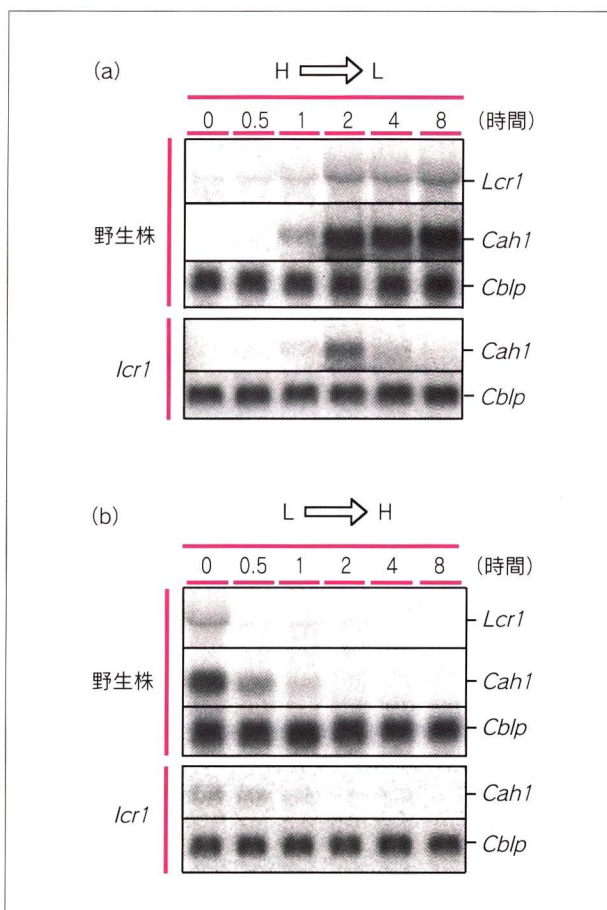


図5 野生株と *lcr1* 変異株における *Cah1* 遺伝子と *Lcr1* 遺伝子の発現パターン

(a)CO₂ 過剰条件(H)からCO₂ 欠乏条件(L)に移して8時間後まで、または、(b)CO₂ 欠乏条件(L)からCO₂ 過剰条件(H)に移して8時間後までの *Cah1* 遺伝子と *Lcr1* 遺伝子の発現を、野生株と調節変異株 *lcr1* について調べた。対照として、恒常的に発現しているG 蛋白質βサブユニットの遺伝子 *Cblp* を同時に示している。[文献 26 より許可を得て転載]

しく低かったことから、LCR1 蛋白質は *Cah1* 遺伝子の誘導初期には関与しないが、その発現レベルの増幅と維持に必要であることが判明した(図5a)。逆に、細胞をCO₂ 欠乏条件からCO₂ 過剰条件に移したところ、*Lcr1* 遺伝子の mRNA は30分ではほぼ消失し、消失に2時間程度が必要な *Cah1* 遺伝子の mRNA に比べて不安定であった。このことから、*Lcr1* 遺伝子の発現はCO₂ 過剰条件において抑制されており、LCR1 は *Cah1* 遺伝子の抑制には影響を与えないことが示唆された(図5b)。

上述したように、CCM1 はCO₂ シグナル伝達におけるマスター因子であることから、*Lcr1* 遺伝子のCO₂ 依存的な発現にCCM1 がどうかかわっているのかを調べ

た。CCM1 欠損株 *ccm1* では *Lcr1* 遺伝子は発現せず、*ccm1* 相補株では野生株と同様に発現がみられたことから、CO₂ 依存的な *Lcr1* 遺伝子の発現は CCM1 によって調節を受けることが判明した(図 6)。CCM1 と LCR1 の上下関係が推定できたが、それでは、LCR1 はどのような遺伝子を転写調節しているのだろうか？ CO₂ 欠乏条件下における *lcr1* 変異株と野生株の発現プロファイルを cDNA マクロアレイで比較したところ、*lcr1* 株において、*Cah1* 遺伝子以外に、低 CO₂ 誘導性遺伝子 *Lci1*、ならびに新奇な低 CO₂ 誘導性遺伝子 *Lci6* の発現レベルが有意に低下していた。*Lcr1* 遺伝子のターゲット遺伝子である *Lci1* 遺伝子と *Lci6* 遺伝子の機能解析が待たれる。

3. Myb ドメインの DNA 結合性とその機能

LCR1 は Myb ドメインを介して 3 つの遺伝子(*Cah1*, *Lci1*, *Lci6*)の調節領域に結合し転写を活性化していると考えられる。LCR1 の Myb ドメインの DNA 結合活性を明らかにするため、GST との融合蛋白質 GST-Myb を調製し、*Cah1* 遺伝子プロモーターとの結合能をゲルシフト解析により調べた。GST のみでは DNA 結合活性はみられなかったが、GST-Myb では複数のシフトバンドがみられ、実際、LCR1 は *Cah1* 遺伝子上流域の複数箇所に結合していた(西出ら；未発表)。

Myb ドメインをもつ蛋白質は、動物、植物、酵母などさまざまな種において保存されておりファミリーを構成している²⁷⁾(図 7)。Myb 蛋白質は、Myb ドメインのくり返し回数から 3 つのサブファミリーに分類され、R1R2R3-Myb, R2R3-Myb および 1R-Myb ファミリーは、それぞれ 3 個、2 個、1 個の Myb ドメインを含んでいる。1R-Myb ファミリーには、シロイヌナズナの概日リズムにかかわる転写因子 CCA1、イネの OsMYBS3、クラミドモナスのリン酸応答性転写因子 PSR1 などが含まれる。1R-Myb ファミリーの Myb ドメインどうしには 30~40% の相同性があり SHAQK(Y/F)F モチーフをもつ²⁸⁾、LCR1 の Myb ドメインは 1R-Myb ファミリーの Myb ドメインと 20% 程度の相同性しか示さず、SHAQK(Y/F)F モチーフももたないことから、LCR1 は 1R 型ではあるが、ほかの 1R-Myb ファミリー蛋白質とは異なり独自の進化をたどったと考えられる。

一方で、シロイヌナズナ AtMYBL2 は LCR1 の Myb ドメインと 33% という高い相同性を示す。AtMYBL2

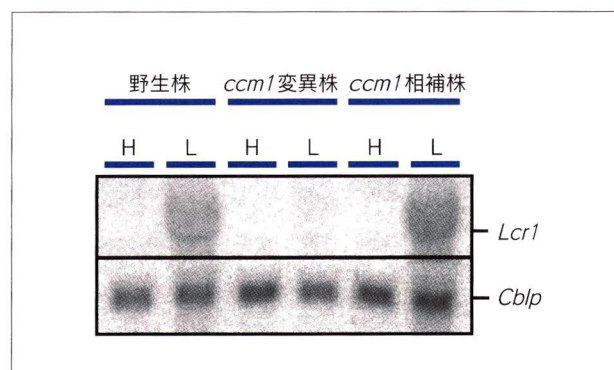


図 6 CCM1 から LCR1 を介した 3 つの CO₂ 欠乏誘導性遺伝子群の調節

野生株、*ccm1* 株、*ccm1* 相補株における *Lcr1* 遺伝子の mRNA 発現パターンを示した。*Ccm1* 遺伝子の変異によって *Lcr1* 遺伝子が発現しなくなることから、*Lcr1* 遺伝子の発現は *Ccm1* 遺伝子に依存していることがわかる。H: CO₂ 過剰条件, L: CO₂ 欠乏条件。

[文献 26 より許可を得て転載]

は転写因子 GL3 と相互作用し、植物の表皮表面のトライコームの発達を調節する GL2 の発現を制御することが知られている²⁹⁾。したがって、LCR1 も AtMYBL2 と同様に、ほかの転写因子と共同して CO₂ 欠乏誘導性遺伝子の転写を活性化している可能性が示唆される。また、植物においてリン酸、糖、光応答に機能する 1R-Myb ファミリー蛋白質が同定されている(リン酸には PSR1²⁸⁾、糖には OsMYBS 2³⁰⁾、光には EPR 1³¹⁾)。LCR1 も 1R-Myb ファミリーに含まれ CO₂ 応答において機能することは、1R-Myb ファミリーの転写因子が植物のさまざまな環境応答にかかわっていることを示唆する。一方で、シアノバクテリアにおいては、LysR ファミリーに属する CO₂ 応答性転写因子 CmpR, NdhR が同定されており、それぞれ *cmpABCD* オペロンと *ndh3* オペロンを調節する^{32, 33)}。クラミドモナスとシアノバクテリアはどちらも無機炭素濃縮機構を誘導するが、真核生物と原核生物では異なるタイプの転写制御因子が CO₂ 欠乏ストレス応答に機能している。

4. EBP と *Cah1* 遺伝子の発現誘導モデル

これまでに、CO₂ に応答する *Cah1* 遺伝子の誘導に必要な EEC 配列(GANTTNC)が決定され、EEC 結合蛋白質 (EEC binding protein; EBP) の存在が示されている²⁵⁾。野生株と *lcr1* 変異株のどちらからも同一の EBP が検出されたことから、EBP は LCR1 とは異なることが示された。*Lcr1* 遺伝子の mRNA が CO₂ 欠乏条件下

でのみ検出されるのに対し、EBP は CO₂ 条件にかかわらず核抽出液中に存在する事実³⁴⁾からも、未知の転写調節因子 EBP が LCR1 と協調して *Cah1* 遺伝子の発現を調節していると推定される。

これまでの知見から、CO₂ 欠乏による *Cah1* 遺伝子の

誘導機構のモデルを考えてみた(図 8)。細胞が CO₂ 欠乏ストレスにさらされると、そのシグナルは恒常的に発現している CCM1 に伝えられる。CCM1 はなんらかの修飾を受けて活性化され、EBP と相互作用することによって *Lcr1* 遺伝子と *Cah1* 遺伝子の発現を誘導する。新

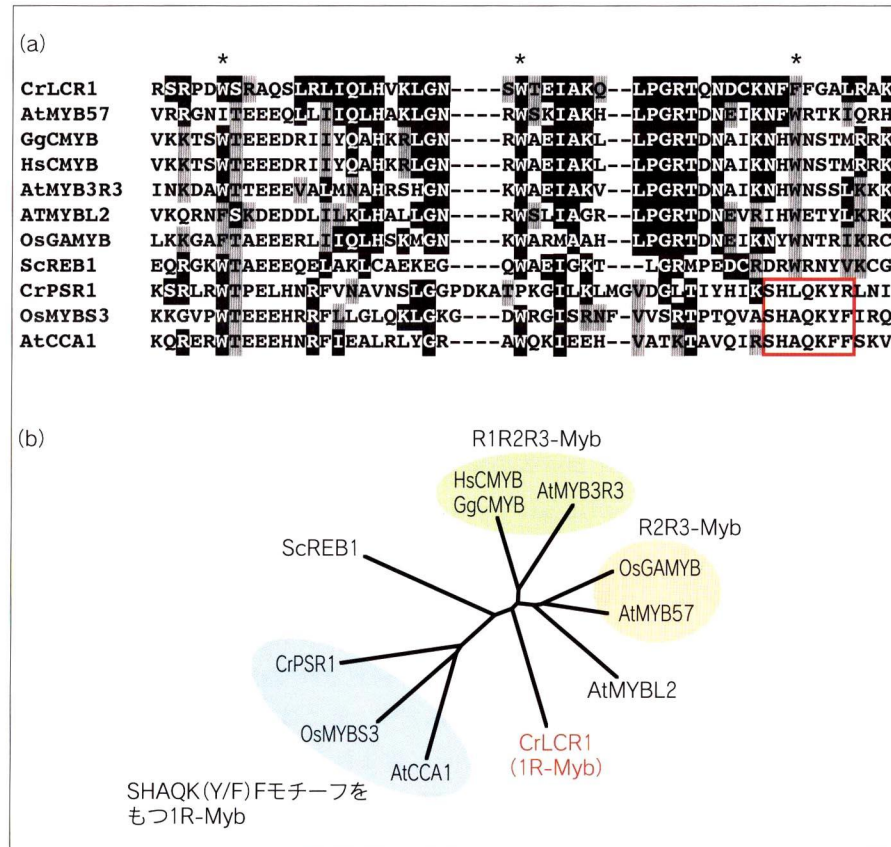


図 7 Mybドメインの配列比較と分子系統樹

(a) クラミドモナスの CrLCR1、CrPSR1、シロイヌナズナの AtMYB57、AtMYB3R3、AtMYBL2、AtCCA1、イネの OsGAMYB、OsMYBS3、酵母の ScREB1、ニワトリの GgCMYB、ヒトの HsCMYB における、Myb ドメインの多重アライメントを示した。Myb ドメインに保存されている 3 つのトリプトファン残基を★で、1R-Myb ファミリーに保存されている SHAQK (Y/F) Fモチーフを赤色の四角で示した。(b) Myb ドメインのアミノ酸配列について近隣結合法により作成した分子系統樹。

[文献 26 より許可を得て転載]

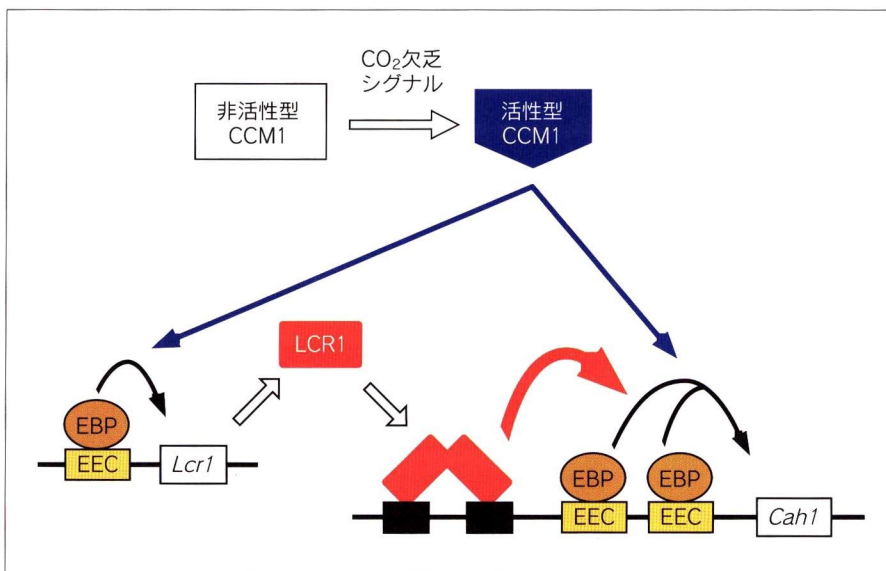


図 8 CO₂ 欠乏条件における *Cah1* 遺伝子の発現調節モデル

細胞が CO₂ 濃度の低下を検知し、シグナルが伝達されることで *Cah1* 遺伝子の発現が誘導されるまでのシグナルの流れを矢印で示した。*Cah1* 遺伝子上流で LCR1 が認識するエンハンサー配列を黒いボックスで、CO₂ 応答性エンハンサー配列 EEC に結合する蛋白質を EBP で示した。

[文献 26 より許可を得て転載]

しく合成された LCR1 は核へ輸送され, *Cah1* 遺伝子上流域のエンハンサーと結合し, EBP とともに *Cah1* 遺伝子の発現を増幅するものと考えられる.

■ おわりに

ここで紹介した CO₂ 依存性の転写因子 LCR1 や CO₂ シグナル伝達因子 CCM1 の発見は, 真核生物で初めての例であり, 光合成順化過程における転写制御機構の解明に一石を投じた. しかし, CO₂ センサー分子や CCM1 と相互作用する因子の実体など, まだ未解明の部分が多く残されている. ここで解説した調節変異株のスクリーニング系^{26, 35)}を用いて, 高 CO₂ 抑制性遺伝子を CO₂ 過剰条件下で抑制できない変異株など CO₂ 応答が異常な変異株の解析を進めることで, CO₂ センサーや CO₂ 応答性遺伝子の発現制御, ならびに, CO₂ シグナル伝達機構について理解が進むであろう. また, 今後, 窒素源などの栄養塩類の欠乏・光や温度ストレスなど, ほかの環境因子による転写応答と CO₂ 応答とのクロストークを明らかにする研究や, シアノバクテリアから緑藻・コケ植物, さらには高等植物をみわたした比較ゲノムの視点での生物の環境応答機構の研究が進展すると期待される.

文 献

- 1) Mignot, T. *et al.* : *Int. J. Med. Microbiol.*, **293**, 619-624 (2004)
- 2) Takayama, S., Isogai, A. : *J. Exp. Bot.*, **54**, 149-156 (2003)
- 3) Kwun, M. *et al.* : *Mol. Cell*, **18**, 94-99 (2004)
- 4) Wang, X. F. *et al.* : *Nature Cell Biol.*, **10**, 902-906 (2003)
- 5) Chen, Y. *et al.* : *Science*, **289**, 625-628 (2000)
- 6) Badger, M. R. *et al.* : *Plant Physiol.*, **66**, 407-413 (1980)
- 7) Fukuzawa, H. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 4383-4387 (1990)
- 8) Eriksson, M. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 12031-12034 (1996)
- 9) Mamedov, T. G. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **276**, 45573-45579 (2001)
- 10) Chen, Z. Y. *et al.* : *Plant Physiol.*, **112**, 677-684 (1996)
- 11) Chen, Z. Y. *et al.* : *Plant Physiol.*, **114**, 265-273 (1997)
- 12) Fukuzawa, H. *et al.* : *Can. J. Bot.*, **76**, 1092-1097 (1998)
- 13) Fukuzawa, H. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 5347-5352 (2001)
- 14) Xiang, Y. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 5341-5346 (2001)
- 15) Miura, K. *et al.* : *Funct. Plant Biol.*, **29**, 211-219 (2002)
- 16) Miura, K. *et al.* : *Plant Physiol.*, **135**, 1595-1607 (2004)
- 17) Fujiwara, S. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 9779-9783 (1990)
- 18) Fukuzawa, H. *et al.* : *Nucleic Acids Res.*, **18**, 6441-6442 (1990)
- 19) Dionisio-Sese, M. L. *et al.* : *Plant Physiol.*, **94**, 1103-1110 (1990)
- 20) Davis, J. P. *et al.* : *Nucleic Acid Res.*, **20**, 2959-2965 (1992)
- 21) Davis, J. P., Grossman, A. R. : *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 5165-5174 (1994)
- 22) Quinn, J. M., Merchant, S. : *Plant Cell*, **7**, 623-628 (1995)
- 23) Ohresser, M. *et al.* : *Curr. Genet.*, **31**, 264-271 (1997)
- 24) Volland, P. *et al.* : *Biochem. J.*, **327**, 51-57 (1997)
- 25) Kucho, K. *et al.* : *Plant Physiol.*, **121**, 1329-1338 (1999)
- 26) Yoshioka, S. *et al.* : *Plant Cell*, **16**, 1466-1477 (2004)
- 27) Jin, H., Martin, C. : *Plant Mol. Biol.*, **41**, 577-585 (1999)
- 28) Lu, C. A. *et al.* : *Plant Cell*, **14**, 1963-1980 (2002)
- 29) Sawa, S. : *DNA Res.*, **9**, 31-34 (2002)
- 30) Wykoff, D. D. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 15336-15341 (1999)
- 31) Kuno, N. *et al.* : *Plant Cell*, **15**, 2476-2488 (2003)
- 32) Figge, R. M. *et al.* : *Mol. Microbiol.*, **39**, 455-468 (2001)
- 33) Omata, T. *et al.* : *J. Bacteriol.*, **183**, 1891-1898 (2001)
- 34) Kucho, K. *et al.* : *Plant Physiol.*, **133**, 783-793 (2003)
- 35) 福澤秀哉・九町健一・三浦謙治: 植物のゲノム研究プロトコル (佐々木卓治・田畑哲之・島本 功 監修), pp. 169-178, 秀潤社 (2001)

福澤秀哉

略歴: 1986 年 京都大学大学院農学研究科博士課程 修了, 東京大学応用微生物研究所 助手, 京都大学農学部 助手, 助教授を経て, 1999 年より京都大学生命科学研究科 助教授. この間, Rockefeller 大学 客員研究員. 研究テーマ: 光合成生物の環境応答とゲノム進化, CO₂ センシングと CO₂ 濃縮機構の制御, 性決定と生殖機能.