

● 特集：葉緑体構築のダイナミクス ●

葉緑体の転写調節

—— 光合成機能発現制御機構 ——

清水正則・吉本光希・小林裕和

地球上生命の維持に必要なエネルギー源を提供する光合成は、植物においては葉緑体で営まれる。この遺伝情報は細胞核と葉緑体の両ゲノムにコードされており、これらの同調的な遺伝子発現は、葉緑体光合成機能の構築に不可欠である。葉緑体光合成遺伝子の転写を司るRNAポリメラーゼの σ 因子は、細胞核にコードされており、両ゲノム光合成遺伝子同期発現に一役をかつている。

Key words 【RNAポリメラーゼ】【 σ 因子】【シロイヌナズナ】【プラスチド】

はじめに 葉緑体は、植物において光合成を営む細胞内小器官であり、この機能により太陽エネルギーを用いて固定されるCO₂は、炭水化物として地球上の生物の生命の維持に必要なエネルギー源となる。葉緑体のこの機能は、細胞核と葉緑体の両ゲノムに分散してコードされる遺伝子群の発現結果である。それらの発現を統御する機能に興味を抱かれる。プラスチドの遺伝子発現は、遺伝子量、転写、転写後、翻訳、および翻訳後の各段階での制御¹⁻⁴⁾ (本特集の他の全項参照)を受ける。緑葉葉緑体における光合成遺伝子発現は、非光合成プラスチドとの対比あるいは非光合成プラスチドとの変換過程において評価されるが、非光合成プラスチドの多様性が、それらとの対比において議論される葉緑体光合成遺伝子発現の制御機構の一律な理解を困難にしている。

プラスチド光合成遺伝子であるリブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)Lサブユニット遺伝子(*rbcL*)、光合成光化学系II反応中心

D1蛋白質遺伝子(*psbA*)、および共役因子CF1 β / ϵ サブユニット遺伝子(*atpB/E*)は、葉緑体において発現しているが、その発現にはさまざまな制御機構の介入を予測させる。一方、非光合成プラスチドにおいては、これらはほとんど発現していないと考えられた。筆者らは、光合成機能構築に焦点をあて、プラスチド光合成遺伝子発現を制御している段階を特定することから研究を開始した。シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)を用い、プラスチドDNAにコードされている*rbcL*、*psbA*、および*atpB/E*について、DNA-DNAハイブリダイゼーション、RNA-DNAハイブリダイゼーション、DNAメチル化認識制限酵素消化とそれに続くPCR、run-on転写、さらに*in vitro* run-off転写実験を行なった⁵⁾。その結果、光合成組織である緑葉と非光合成組織である根におけるプラスチド光合成遺伝子発現は、DNAコピー数および転写産物の安定性による制御の介入も確認されたが、転写活性において、20倍以上の差が認められた。これは、メチル化などの

Masanori Shimizu, Kohki Yoshimoto, Hirokazu Kobayashi, 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科食品栄養科学専攻 (〒422-8526 静岡市谷田52-1) [Laboratory of Plant Cell Technology, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka, Yada, Shizuoka 422-8526, Japan] E-mail: hirokazu@u-shizuoka-ken.ac.jp http://sfn.s-u-shizuoka-ken.ac.jp/pctech/

Transcriptional Regulation in the Chloroplast: Mechanisms of Coordinated Expression of Photosynthesis Genes

DNA 修飾による制御ではなく、転写装置活性の違いによる制御と考えられた⁵⁾。しかし、これまで、プラスチド遺伝子の転写装置には未知の点が多かった。

1997 年になり筆者らを含む国内の研究グループが σ 因子^{6,7)} を、また、国外の研究グループが NEP (後述) をクローニングしたことによりプラスチド遺伝子の基本的転写装置が明らかになった。これらを契機にプラスチド遺伝子の発現制御機構の興味深い側面が解明されてきた。プラスチド遺伝子の発現には転写調節因子の介在も考えられ、複雑な様相を呈するが、以下、転写機構について最近明らかにされた話題を中心に解説していく。

I. 転写装置

1. 転写調節機構

転写調節は、以下の 3 つの機構に内在すると考える²⁾。① 転写装置 (RNA ポリメラーゼ)、② 転写制御 (調節) 因子、および ③ DNA 鋳型活性の変化。これらのうち、 σ 因子を含む RNA ポリメラーゼの構成サブユニットは、転写活性を促進する因子、すなわち、転写制御因子でもありうるので、これら ① と ② を明確に区別して議論することは、困難に思える。一方、DNA 鋳型活性については、DNA ジャイレースが関与する DNA の超らせん構造度 (superhelicity) の変化、あるいは DNA メチル化やクロマチン構造に起因する DNA 構造変化があげられ、これらはエピジェネティックな制御機構として興味深い。DNA メチル化は、脱メチル化が迅速に起こらないという点において不可逆的であり、DNA メチル化による転写鋳型活性の抑制は、葉緑体が光合成機能を消失する過程、たとえば、トマト果実の成熟に伴う葉緑体からクロモプラストへの変換過程において重要であると考えられる⁸⁾。本稿では、葉緑体光合成機能発現過程における転写装置およびその活性制御機構に照準を合わせる。

2. 転写活性とその遺伝子支配

葉緑体 DNA の転写に関与する RNA ポリメラーゼに関し、1971 年に DNA 依存性 mRNA 合成活性が葉緑体可溶性画分から検出された⁹⁾。その後、*rpo* (RNA polymerase) 遺伝子群が葉緑体 DNA 上に見いだされていたが^{10,11)}、これらの産物が葉緑体において機能して

いるかが議論的となった。葉緑体 RNA およびポリ (A)⁺ RNA の試験管内翻訳¹²⁾、*rpo* 遺伝子群あるいは *rpoC2* に欠失があるそれぞれ beechdrop (*Epifagus virginiana*)¹³⁾ あるいはモロコシ¹⁴⁾ の解析、さらに高温によりあるいは遺伝的にプラスチドリボソームを欠失したオオムギ¹⁵⁾ あるいはライムギ¹⁵⁾ におけるプラスチド RNA 合成実験により、葉緑体で機能している RNA ポリメラーゼには、細胞核にコードされ細胞質から輸送されるものも存在することが明らかとなった。

3. バクテリオファージ型 RNA ポリメラーゼ (NEP)

核にコードされ葉緑体で機能している RNA ポリメラーゼが存在することはすでに述べたとおりである。核 DNA にコードされると考えられる分子量 110 K の単一サブユニットの RNA ポリメラーゼがホウレンソウ葉緑体から調製されていたが¹⁶⁾、1997 年になり、葉緑体あるいはミトコンドリアにそれぞれターゲットして機能すると考えられる 2 種類のバクテリオファージ型 RNA ポリメラーゼをコードする核遺伝子がクローニングされた¹⁷⁾。これは、NEP (nuclear-encoded plastid RNA polymerase) とよばれる。

4. 細菌型 RNA ポリメラーゼ (PEP)

1990 年にトウモロコシ葉緑体から RNA ポリメラーゼが精製・純化され、それを構成するサブユニットの部分的アミノ酸配列が決定された¹⁸⁾。その結果、サブユニット構造は、*Escherichia coli* RNA ポリメラーゼ ($\alpha_2\beta\beta'\sigma$)¹⁹⁾ と類似しているが、 β'' を含み $\alpha_2\beta\beta'\beta''\sigma$ であり、 α 、 β 、 β' 、 β'' 、 σ は、それぞれプラスチド遺伝子 *rpoA*、*rpoB*、*rpoC1*、*rpoC2*、および核遺伝子 *RpoD* (現在では、SIG あるいは Sig が用いられる。なお、すべて大文字で綴るのはシロイヌナズナ核野生型遺伝子の表記法、および頭文字のみ大文字で綴るのは植物核遺伝子の命名規定に従う) にコードされていることが明らかになった¹⁸⁾。コア酵素 ($\alpha_2\beta\beta'\beta''$) がプラスチド DNA コードであることから、細菌型 RNA ポリメラーゼは、PEP (plastid - encoded plastid RNA polymerase) とよばれる。

真性細菌における転写のプロモーター特異性は、RNA ポリメラーゼコア酵素が結合する異なる σ 因子に依存する²⁰⁾。高等植物の緑化過程においてプラスチドはエチオプラストから葉緑体に発達し、この間にプラスチド

遺伝子発現が活性化されることが知られている。トウモロコシ、イネ、*Chlamydomonas*、さらに原始紅藻 *Cyanidium caldarium* の葉緑体 RNA ポリメラーゼから、それぞれ 64 K、100 K、80 K、さらに 32 K の σ 因子の存在が²¹⁾、さらにカラシ (*Sinapis alba*) のエチオプラストおよび葉緑体から同様な 3 種類の σ 様因子が精製された²²⁾。細胞核ゲノムにコードされると考えられる σ 因子遺伝子のクローニングは、真性細菌由来 σ 因子とのホモロジー、あるいはプラスチド遺伝子プロモーターとの結合活性を指標にした方法論では成功せず、結局、シロイヌナズナ EST (expressed sequence tag) データベースへ登録されることを待って、 σ 因子候補の cDNA が単離されることとなった^{6,7)}。高等植物から σ 因子および NEP の遺伝子がクローニングされたことにより、プラスチド遺伝子の発現調節機構および核とプラスチドの協調的発現制御に対する理解を深めることが期待される。

5. RNA ポリメラーゼ複合体

RNA ポリメラーゼ複合体として、A と B の 2 種類が存在していることがカラシで示された。A 型はおもに明所において存在し、少なくとも 13 個のポリペプチドからなる 700 K 以上の複合体であり、B 型はおもに暗所において存在し、PEP のサブユニットのみからなる 420 K の複合体として存在する²³⁾。A 型複合体には、PEP と NEP が含まれていると報告されている²³⁾。これは、明所では同一の複合体としてそれぞれの活性が制御されていることを示唆する。A と B の 2 種類のポリメラーゼ複合体のリファンピシン感受性は、PEP プロモーターに対しては、A 型が非感受性、B 型が感受性²³⁾であり、一方、NEP プロモーターに対しては影響を与えない²³⁾。*E. coli* におけるリファンピシンの阻害効果は、プライマリー σ 因子を含むとき認められるが、 σ^{32} では感受性が低下することが報告されている²⁴⁾。これは結合する σ 因子による複合体の構造変化に起因する。A 型の PEP 活性に対しリファンピシン非感受性を与える因子として、結合する σ 因子種の変化、あるいは複合体構成成分による構造変化があげられる。

葉緑体発達過程における B 型から A 型へのより高度な転写装置の形成は、NEP と PEP の両活性を制御し、より効率的かつ増大した転写をもたらすために重要であるようだ。A 型 RNA ポリメラーゼ複合体の構成

分は、プラスチド遺伝子発現の多様化をもたらしている因子である可能性があり、発現制御機構を理解するうえで明らかにされるべき問題となる。

6. 光合成遺伝子発現転写カスケード

葉緑体ゲノムにコードされる蛋白質遺伝子には、真性細菌の σ^{70} 型 RNA ポリメラーゼで認識される典型的な -35 および -10 プロモーター配列を有するものと、そうでないものが存在した。このことから、前述の PEP および NEP がどのように対応するのか興味もたれた。葉緑体形質転換技術の発達により、PEP の β サブユニットをコードするプラスチド遺伝子 *rpoB* を欠失させたタバコ形質転換体が 1996 年に作出された²⁵⁾。この形質転換体において、葉緑体光合成遺伝子である *psbA* および *rbcL* など -35 および -10 プロモーター配列を有する遺伝子の発現が低下すること、一方、rRNA オペロン (*rrn*) などハウスキーピング遺伝子群などの発現は低下しないことが明らかとなった²⁵⁾。さらに、*rpoA* 欠失タバコ形質転換体から調製されたプラスチド *in vitro* 転写を用い *rpoB* プロモーター構造が解析された²⁶⁾。前述の beechdrop やオオムギ変異株などの結果とあわせると、葉緑体光合成遺伝子の発現にはまず細胞核にコードされる NEP が発現し、これにより保存配列をもたない PEP コア酵素およびリボソーム翻訳系(ハウスキーピング)の遺伝子の転写が誘導され、ついで、PEP の σ 因子の活性が発現するという転写カスケードが想定される(図 1)。しかし、実際の植物体では、この転写カスケードは連続的に行なわれるため NEP および PEP の活性は同期的に観察される。また、PEP による転写制御は、後述のように多種の σ 因子により動的に調節されていると考えられる。

II. σ 因子による転写調節

1. σ 因子の多数性

シロイヌナズナにおいては、3 種類の σ 因子遺伝子が報告され^{6,7)}、その後現在までにさらに 3 種類の σ 様因子の存在がデータベース上で確認される。これら σ 因子は、アミノ酸配列からは真性細菌 σ^{70} 因子ファミリーのサブグループ 2 に相同性が高い。なお、 σ^{70} 因子ファミリーには、-35 および -10 の保存配列を認識するプライマリー σ 因子 (σ^{70} 因子) および -10 の保存配列

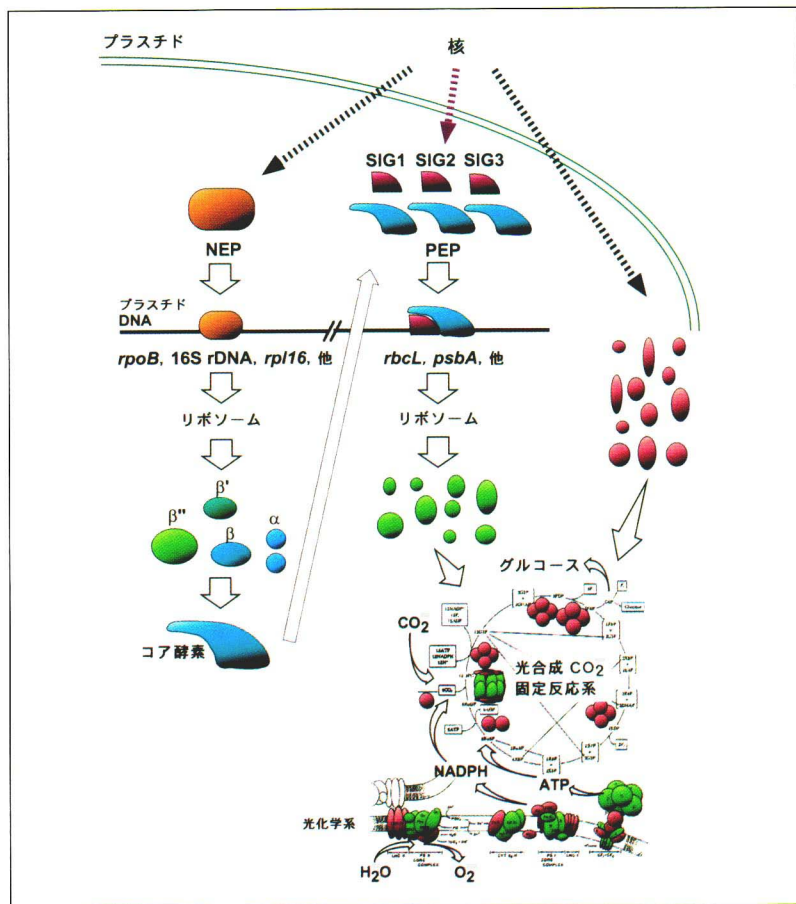


図1 植物葉緑体における光合成遺伝子発現転写カスケード
葉緑体光合成遺伝子が発現するためには、まず、細胞核にコードされる NEP 遺伝子が発現し、PEP 酵素およびリボソーム翻訳系が合成され、次に、PEP の活性が発現するという2種類のRNAポリメラーゼによる転写カスケードが想定される。

のみ必要とするサブグループ2 (σ^{38} 因子)が含まれる²⁰⁾。前者は細胞増殖期において、後者は定常期において機能していると考えられている²⁰⁾。シロイヌナズナ σ 因子が葉緑体にターゲットしていることは、SIG1, SIG2, および SIG3 について確認されている^{1,27)}。その他の SIG の N 末端のアミノ酸配列も、Ser および Thr に富むことから、葉緑体に輸送されると考えられる。また、SIG4 は、異なる RNA スプライシングによると思われる α と β の mRNA 種がデータベースに登録されている。 α は全保存領域を含むが、 β は、 σ 因子機能に重要なドメインである領域2までを含み、領域3以降のC末端側のない構造となっている。シロイヌナズナ以外の高等植物では、SIG2に相当するもの²⁸⁻³¹⁾およびSIG1のホモログ³²⁾が報告されている。これら複数の σ 因子による

プラスチド光合成遺伝子プロモーターの認識の特異性、およびこれら個々の σ 因子の機能発現の特異的な制御機構については後述する。

2. プラスチド光合成遺伝子の発現調節の多様性

コムギを用い、暗所に馴化した葉身の基部および明所で生育した葉身の先端からの葉緑体 *in vitro* 転写系を用い、プロモーター要求性の異なった2種類のPEP活性が確認されている³³⁾。暗馴化葉身基部に存在するPEP (基部型 RNAP) は、*psbA*, *psbD*, *psbC*, および *psbE* を転写し、明所生育葉身先端に存在する光誘導性のPEP (先端型 RNAP) は、*psbA* および *psbD* を高発現する。*psbA* プロモーターの塩基置換により、基部型 RNAP は-35 配列および-10 配列要求性であり、先端型 RNAP は-35 配列を必要としないことが示された³³⁾。つまり、コムギの緑葉に

おける2種類のRNAポリメラーゼは、葉の発達初期では基部型RNAPが機能し、照射により葉緑体が発達するとき、光誘導性のより転写活性の高い先端型RNAPに置き換わることで、*psbA* など代謝回転の速い蛋白質を迅速に転写する。このとき、*psbA* の転写活性がとくに高いのは、先端型RNAPが、TGモチーフ³⁴⁾ (後述)を認識するためと思われる。

psbD は複数の転写開始点をもつことが知られ、このうちの1つは、光誘導的であり、LRP (light-responsive promoter) とよばれる³⁵⁾。LRPからの効率的な転写には-35 配列および-10 配列だけでなく、その上流に存在するAAGTリピートおよびGACC/Tリピートが重要であり、これらに対するトランス因子が解析されている³³⁾。しかしながら、これらの配列を欠失させて

も光誘導性を失わないことから、転写活性促進配列として働いていると考えられる。一方、コムギ実生の *psbD* LRP の発現が、概日リズムに従うことが示されている³⁵⁾。一方、*psbA* は概日リズムを示さない。塩基置換を行なった実験により、*psbA* に見られる-35 保存配列 (5'-TTGACA-3')がない場合に、概日リズムを示すことが明らかになった³⁵⁾。

-35 配列および-10 配列の認識は σ 因子が担っていることを考慮すると、前述した先端型 RNAP と基部型 RNAP は 2 種類の異なる σ 因子の関与を示唆する。最近、光誘導的に発現するコムギ *SigA* 転写産物量が概日リズムを示すことが示され²⁹⁾、先端型 RNAP は-35 保存配列を必要とせず概日リズムを示すことから、*SigA* が先端型 RNAP の構成成分であると考えられる。このように遺伝子発現は、プロモーターと σ 因子の組合せによって多様性を生じている。

σ 因子は、プラスチド光合成遺伝子の基本的発現に対して重要な役割をもつ。しかし、プラスチド光合成遺伝子が受けるさらに巧みな制御を説明するためには他の調節因子の関与を否定できない。*rbcL*、*psbA*、*psbD* および *psaA* のプロモーター領域に結合する蛋白質が報告されており^{35,36)}、これらが遺伝子発現の特徴を担う可能性がある。

3. 転写抑制

プラスチド光合成遺伝子の多様な発現様式は、各 σ 因子の量的・質的な変化によって説明できる部分が多い。その他の遺伝子発現の多様性をもたらす因子として CND41³⁷⁾ があげられる。この因子は、葉緑体 DNA に結合してその発現を負に制御していることが報告されている。これは、*E. coli* などの真性細菌において報告されている抗 σ 因子²⁰⁾ の機能に似ており、機能しうる

σ 因子種を制限している、あるいは総活性を調節していると考えられる。*E. coli* において σ^{70} 因子の保存領域 4 付近へ結合し、その-35 配列に対する結合能を低下させ転写活性を失わせる因子として Rsd (regulator of sigma D) が報告されている³⁸⁾。この因子により σ^{70} 因子のプロモーター結合能が低下すると、他の σ 因子が、プロモーターへ結合できるようになり、転写活性は上昇する。つまり、抗 σ 因子は他の σ 因子による転写を導く。今後、高等植物においても特定の σ 因子に対する抗 σ 因子として機能するポリペプチドが見つかるかもしれない。

III. σ 因子のプロモーター認識特異性

1. σ 因子の構造と機能

真性細菌の RNA ポリメラーゼ σ^{70} 因子認識プロモーターの-35 および-10 配列の作用部位は、部位特異的

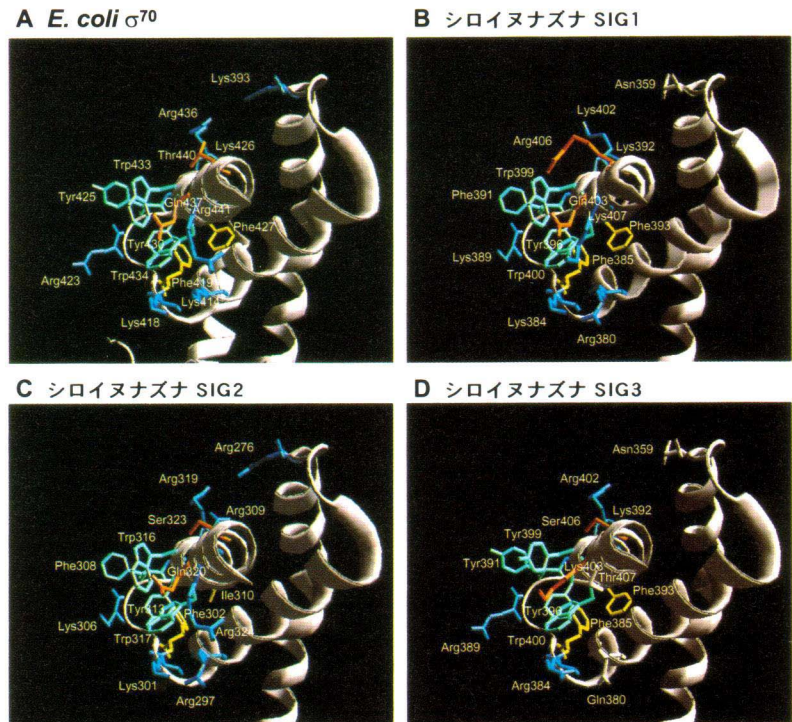


図 2 3 種類のシロイヌナズナ σ 因子の DNA 相互作用ドメイン 3 次元構造

青：正電荷塩基性アミノ酸残基（プロモーター認識および DNA 融解にかかわるアミノ酸残基を取り囲み、DNA リン酸骨格との相互作用に関与）、白：無電荷アミノ酸残基、オレンジ：*E. coli* σ^{70} 因子が-10 配列の T (-12) と相互作用するアミノ酸残基に対応する残基、青緑：領域 2.3 において突出している芳香族アミノ酸（DNA 融解に関与）、黄色：疎水性コアを構成する保存残基。

変異導入により明らかにされている³⁹⁾。保存領域2は、DNA融解、-10プロモーター認識、TGモチーフ(後述)認識、およびRNAポリメラーゼコア酵素結合に重要である。1996年に、*E. coli* σ^{70} 因子がX線結晶構造解析に供され、領域2を含む断片(アミノ酸残基番号114~448)について、分解能2.6Åの3次元構造が提出された⁴⁰⁾。この3次元構造は、これまでに得られていた部位特異的変異導入による結果を支持した⁴⁰⁾。上述した植物複数種からの σ^{70} 型因子ホモログ^{6,7,27~32)}について、その認識プロモーター内の-35および-10配列の特異性は明らかになっていない。筆者らは、シロイヌナズナのSIG1, SIG2, およびSIG3を強制発現させたタバコBY-2培養細胞での内在性プラスチド光合成遺伝子の発現量を測定した。さらに、-35および-10配列に塩基置換を導入した各種コンストラクトを作製し、それぞれ各SIG導入BY-2培養細胞に導入し、一過性発現により、変異プロモーター活性をルシフェラーゼ活性として測定した。また、*E. coli* σ^{70} 因子の3次元構造⁴⁰⁾を基にして、シロイヌナズナの3種類の σ 因子(SIG)の構造をモデリングした(図2)。これらの結果、シロイヌナズナ σ 因子の各ドメインとプロモーターの分子レベルの相互作用が明らかとなった。

2. 領域2.3

領域2.3に保存されている4つの芳香族アミノ酸残基(Tyr425, Tyr430, Trp433, およびTrp434)は、領域2.4内の-10配列認識に関与しているアミノ酸残基と同様、ヘリックス14の同じ面を向いていると考えられ(図2)、これら芳香族アミノ酸残基は、DNA融解と-10配列認識に関与していると思われる⁴⁰⁾。

シロイヌナズナの3種類の σ 因子についても、領域2.3のアミノ酸残基が-10配列と相互作用することが、*psbA*と*rbcL*の-35および-10プロモーター配列に部位特異的変異を導入した一過性発現実験から示唆された(Yoshimoto, K. *et al.*: 投稿中)。

3. 領域2.4

E. coli σ^{70} 因子の3次元構造によると、領域2.4はよく保存された疎水性残基Ile435, Ile439, およびIle443によって両親媒性のヘリックス構造をとり、Gln437およびThr440が-10プロモーター配列のT(-12)と接触するように露出している⁴⁰⁾(図2)。シロ

イヌナズナ σ^{70} 因子についても、疎水性残基が完全に保存されており(SIG1: Ile401, Val405, Leu409, SIG2: Ile318, Val322, Leu326, SIG3: Ile401, Met405, Val409)、この領域は両親媒性ヘリックス構造をとると考えられる(図2)。その結果、*E. coli* σ^{70} 因子のGln437およびThr440に対応するアミノ酸残基(図2においてオレンジ色で表示)が、-10配列のT(-12)と接触するように露出していると推定される。

-10配列の“-11/-10”および“-12”と相互作用すると考えられるアミノ酸残基は、ヘリックス14の上で一方向を向いて並んでいる(上述)。この並んでいるアミノ酸残基は、その上下に保存された塩基性のLysおよびArgに取り囲まれており、これら塩基性アミノ酸残基は正電荷を帯びているため、負電荷のDNAリン酸骨格と相互作用すると考えられる⁴⁰⁾(図2)。これらLysおよびArgは、SIG2において最もよく保存されている(図2)。したがって、SIG2は、SIG1およびSIG3よりも、プロモーターとの親和性が高い。このことが、SIG2強制発現BY2培養細胞において、内在性および塩基置換プロモーターの活性が高いことの一因と考えられる。

4. 領域2.5

E. coli σ^{70} 因子において、領域2.5のGlu458が、-10配列の少し上流(5'-TGNTATAAT-3')のTとG(-14/-15)の接触に重要であることが最近明らかにされた³⁴⁾。この配列はTGモチーフとよばれ、すでに述べたようにコムギ*psbA*の転写に重要である³³⁾。また、シロイヌナズナの*psbA*プロモーターにも、TGモチーフが見られる。*E. coli* σ^{70} 因子においてTGモチーフと相互作用すると思われる領域2.5内のGlu458は、SIG1およびSIG2に保存されている(SIG1: Glu424, SIG2: Glu341)。しかしながら、各SIG強制発現BY-2培養細胞における内在性*psbA*の転写産物量は、SIG2>SIG3>SIG1であった(Yoshimoto, K. *et al.*: 投稿中)。したがって、これらのSIGについては、TGモチーフ以外の因子がプロモーター特異性に重要であると考えられる。

5. その他の相互作用

-35配列と-10配列の間のスパーサー配列の中心部分に位置するTATAボックス様配列が、カラシヤオコムギにおける*psbA*の転写に重要であることが報告され

ている⁴¹⁾。内在性 *psbA* の転写産物量は、*SIG2* あるいは *SIG3* を強制発現させた BY-2 培養細胞において増大が顕著であったため (Yoshimoto, K. *et al.*: 投稿中), *SIG2* および *SIG3* は、TATA ボックス様配列をより認識しやすいのかもしれない。しかしながら、コムギにおいては、TATA ボックス様配列は *psbA* の転写に何ら影響を与えなかったことから³³⁾、シロイヌナズナにおける TATA ボックス様配列の機能に興味もたれる。

IV. σ 因子遺伝子発現の核制御

1. シグナル伝達系

筆者らは、シロイヌナズナ σ 因子の発現様式を検討していく過程で、すべての σ 因子遺伝子の発現は光により促進され、緑葉においては *SIG1* および *SIG2* が強く発現し、暗所生育葉においては *SIG1* がおもに発現していることを見いだした。これらのことから、葉緑体発達初期においては、*SIG1* が主として働き、その後、*SIG1* は *SIG2* とともにプラスチド光合成遺伝子発現を増大させていると考察された。これまでにプラスチド光合成遺伝子の発現が光誘導的であり、これがフィトクロムを介していることが報告されている⁴²⁾。光情報は、フィトクロムを経由して核へ伝達されさまざまな遺伝子発現を誘導することが明らかにされている⁴³⁾が、この情報が葉緑体へどのように伝わっているのか、あるいは葉緑体自身が光シグナルを受容しているのか不明であった。筆者らは、プラスチド光合成遺伝子が核光合成遺伝子と同じシグナル伝達系にあるか検討した。シロイヌナズナ光受容変異体、およびシロイヌナズナ光形態形成突然変異体を用いて、 σ 因子遺伝子の発現を調べたところ、すべての σ 因子は核遺伝子で知られている光シグナル伝達系に属することが明らかとなった (Shimizu, M. *et al.*: 投稿中) (図 3)。このことは、核から葉緑体へのシグナルを σ 因子が担っていることを示す。また、*rpoB* も同様に光応答することから、NEP も σ 因子とともに核から葉緑体へのシグナルとして働くと考えられる。

2. σ 因子活性の光調節

波長の異なる光による照射実験を行ない σ 因子およびプラスチド光合成遺伝子の発現を調べたところ、赤色光、近赤外光および青色光とも σ 因子の発現をもた

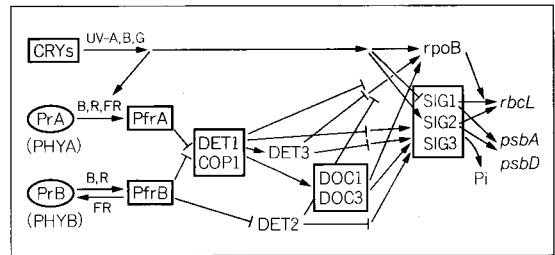


図 3 シロイヌナズナ実生における葉緑体光合成遺伝子発現制御シグナル経路

矢印は次のステップへの促進シグナル、T字の実線は次のステップへの抑制シグナルを示す。

らした。このときのプラスチド光合成遺伝子発現を見ると、赤色光、および青色光において σ 因子の発現と相関は低かった (Shimizu, M. *et al.*: 投稿中)。これは、プラスチド遺伝子発現に重要な σ 因子が翻訳および翻訳後の修飾の制御を受けるためと考えられる。この修飾の1つの候補としてリン酸化があげられる。カラシの3種類の σ 因子 (SLF67, SLF52, および SLF29) のうち、SLF52 および SLF29 が暗所においてリン酸化されていることが知られている²²⁾。 σ 因子のリン酸化は、転写活性を低下させる。 σ 因子をリン酸化する Ser/Thr 型プロテインキナーゼがポリメラーゼ複合体に存在することが報告されている²²⁾。また、オオムギの *psbD* LRP の発現にリン酸化が関与していることが、オカダ酸および K252 を用いて示されている⁴⁴⁾。光化学系の光捕集複合体 LHC II のリン酸化は光依存的であり、このリン酸化活性が、光化学系のレドックス制御を受けることが示されている。最近、光化学系のレドックス制御が、光化学系 I (PS I) の *psaA* と光化学系 II (PS II) の *psbA* の発現を転写レベルで調節を支配していることが示された⁴⁵⁾。上述した σ 因子をリン酸化するプロテインキナーゼは、レドックス制御により活性が調節されており²²⁾。レドックスのシグナルがどのような経路でプロテインキナーゼの活性化をもたらすのか、また、これに関与する σ 因子種およびリン酸化部位などが今後解明されなければならない。このように σ 因子は光制御による質の変化によってもプラスチド遺伝子の発現を調節している。

おわりに 生物はその発生と分化の過程を通じ、ゲノ

ム上の遺伝子の発現には、その時間と場所という二元支配下における統御が存在する。植物の葉緑体が営む光合成という地球上生命の維持に必要な不可欠な機能の構築にも細胞核と葉緑体両ゲノムにコードされる光合成遺伝子の同調的発現が介在する。この統御を司るのが葉緑体 RNA ポリメラーゼ σ 因子であるといえる。ここに生物のもつ機能恒常発現の美しい統御機構の一例をみた。

一方、葉緑体遺伝子発現制御機構の解明は、その遺伝子発現の人的制御の可能性の糸口となる。これらの研究が、人類を含む地球上生物の生命の維持に必要な光合成機能を増強する一助となれば幸いと考える。

本稿で紹介した筆者らの研究は、共同研究者である磯野協一博士の努力によるところが大きい。また、ここで紹介した蛋白質3次元構造モデルには、酒井 坦博士の協力を得た。これらの方々に深甚なる謝意を表する。

文 献

- 1) Kobayashi, H. : *in* Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Vol. 7B : The Photosynthetic Apparatus : Molecular Biology and Operation (ed. Bogorad L., Vasil, I. K.), pp. 395-415, Academic Press, San Diego (1991)
- 2) 小林裕和・池内昌彦 : 分子生物学の展開, 5巻 植物分子生物学 (山田康之編), pp. 99-120, 朝倉書店 (1997)
- 3) Gruissem, W., Tonky, J. C. : *Critic. Rev. Plant Sci.*, **12**, 19-55 (1993)
- 4) Stern, D. B., Higgs, D. C., Yang, J. : *Trends Plant Sci.*, **2**, 308-315 (1997)
- 5) Isono, K., Niwa, Y., Satoh, K., Kobayashi, H. : *Plant Physiol.*, **114**, 623-630, (1997)
- 6) Isono, K., Shimizu, M., Yoshimoto, K., Niwa, Y., Satoh, K., Yokota, A., Kobayashi, H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 14948-14953 (1997)
- 7) Tanaka, K., Tozawa, Y., Mochizuki, N., Shinozaki, K., Nagatani, A., Wakasa, K., Takahashi, H. : *FEBS Lett.*, **413**, 309-313 (1997)
- 8) Kobayashi, H., Ngernprasirtsiri, J., Akazawa, T. : *EMBO J.*, **9**, 307-313 (1990)
- 9) Bottomley, W., Smith, H. J., Bogorad, L. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 2412-2416 (1971)
- 10) Shinozaki, K., Ohme, M., Tanaka, M., Wakasugi, T., Hayashida, N., Matsubayashi, T., Zaita, N., Chunwongse, J., Obokata, J., Yamaguchi-Shinozaki, K., Ohto, C., Torazawa, K., Meng, B. Y., Sugita, M., Deno, H., Kamogashira, T., Yamada, K., Kusuda, J., Takaiwa, F., Kato, A., Tohdoh, N., Shimada, H., Sugiura, M. : *EMBO J.*, **5**, 2043-2049 (1986)
- 11) Ohyama, K., Fukuzawa, H., Kohchi, T., Shirai, H., Sano, T., Sano, S., Umesono, K., Shiki, Y., Takeuchi, M., Chang, Z., Aota, S., Inokuchi, H., Ozeki, H. : *Nature*, **322**, 572-574 (1986)
- 12) Lerbs, S., Brautigam, E., Parthier, B. : *EMBO J.*, **4**, 1661-1666 (1985)
- 13) Morden, C. W., Wolfe, K. H., dePamphilis, C. W., Palmer, J. D. : *EMBO J.*, **10**, 3281-3288 (1991)
- 14) Chen, Z. J., Muthukrishnan, S., Liang, G. H., Schertz, K. F., Hart, G. E. : *Mol. Gen. Genet.*, **236**, 251-259 (1993)
- 15) Hess, W. R., Prombona, A., Fieder, B., Subramanian, A. R., Börner, T. : *EMBO J.*, **12**, 563-571 (1993)
- 16) Lerbs-Mache, S. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 5509-5513 (1993)
- 17) Hedtke, B., Börner, T., Weihe, A. : *Science*, **277**, 809-811 (1997)
- 18) Hu, J., Bogorad, L. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 1531-1535 (1990)
- 19) Ishihama, A. : *Trends Genet.*, **4**, 282-286 (1998)
- 20) Wösten, M. M. S. M. : *FEMS Micro. Rev.*, **22**, 127-150 (1998)
- 21) Troxler, R. F., Zhang, F., Hu, J., Bogorad, L. : *Plant Physiol.*, **104**, 753-759 (1994)
- 22) Baginsky, S., Tiller, K., Pfannschmidt, T., Link, G. : *Plant Mol. Biol.*, **39**, 1013-1023 (1999)
- 23) Pfannschmidt, T., Link, G. : *Mol. Gene Genet.*, **257**, 35-44 (1997)
- 24) Wegrzyn, A., Szalewska-Palasz, A., Blaszczyk, A., Liberek, K., Wegrzyn, G. : *FEBS Lett.*, **440**, 172-174 (1998)
- 25) Allison, L. A., Simon, L. D., Maliga, P. : *EMBO J.*, **15**, 2802-2809 (1996)
- 26) Liere, K., Maliga, P. : *EMBO J.*, **18**, 249-257 (1999)
- 27) Kanamaru, K., Fujiwara, M., Seki, M., Katagiri, T., Nakamura, M., Mochizuki, N., Nagatani, A., Shinozaki, K., Tanaka, K., Takahashi, H. : *Plant Cell Physiol.*, **40**, 832-842 (1999)
- 28) Tozawa, Y., Tanaka, K., Takahashi, H., Wakasa, K. : *Nucl. Acids Res.*, **26**, 415-419 (1998)
- 29) Morikawa, K., Ito, S., Tsunoyama, Y., Nakahira, Y., Shiina, T., Toyoshima, Y. : *FEBS Lett.*, **451**, 275-278 (1999)
- 30) Tan, S., Troxler, R. F. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 5316-5321 (1999)
- 31) Kestermann, M., Neukirchen, S., Klopstsch, K., Link, G. : *Nucl. Acids Res.*, **26**, 2747-2753 (1998)
- 32) Lahiri, S. D., Yao, J., McCumbers, C., Allison, L.

- A. : *Mol. Cell. Biol. Res. Commun.*, **1**, 14-20 (1999)
- 33) Satoh, J., Baba, K., Nakahira, Y., Tsunoyama, Y., Shiina, T., Toyoshima, Y. : *Plant J.*, **18**, 407-415 (1999)
- 34) Barne, K. A., Bown, J. A., Busby, S. J. W., Minchin, S. D. : *EMBO J.*, **16**, 4034-4040 (1997)
- 35) Nakahira, Y., Baba, K., Yoneda, A., Shiina, T., Toyoshima, Y. : *Plant Physiol.*, **118**, 1079-1088 (1998)
- 36) Ming-chu, C., Ming-chin, C., Shu-chen, G. C. : *Plant Cell Physiol.*, **34**, 577-584 (1993)
- 37) Nakano, T., Murakami, S., Shoji, T., Yoshida, S., Yamada, Y., Sato, F. : *Plant Cell*, **9**, 1673-1682, (1997)
- 38) Jishage, M., Ishihama, A. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 4953-4958 (1998)
- 39) Ring, B. Z., Yarnell, W. S., Roberts, J. W. : *Cell*, **86**, 485-493 (1996)
- 40) Malhota, A., Sererina, E., Darst, S. A. : *Cell*, **87**, 127-136 (1996)
- 41) Kim, M., Thum, K. E., Morishige, D. T., Mullet, J. E. : *J. Biol. Chem.*, **274**, 4684-4692 (1999)
- 42) Zhu, Y.-S., King, S.-D., Bogorad, L. : *Plant Physiol.*, **79**, 371-376 (1985)
- 43) Arguello-Astorga, G., Herrera-Estrella, L. : *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **49**, 525-555 (1998)
- 44) Christopher, D.-A., Xinli, L., Kim, M., Mullet, J. E. : *Plant Physiol.*, **113**, 1273-1282 (1997)
- 45) Pfannschmidt, T., Nilsson, A., Allen, J. F. : *Nature*, **397**, 625-628 (1999)

清水正則

略歴：1998年 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科博士課程修了。1998年 同大学院客員共同研究員。関心事：光合成遺伝子発現に対する光シグナル伝達経路と光化学系レドックス制御の関係。

吉本光希

略歴：1997年 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科修士課程修了。1997年 同大学院博士課程進学。関心事：葉緑体における核遺伝子支配による遺伝子発現制御機構。

小林裕和

略歴：1982年 名古屋大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士課程修了。1983年 米国ハーバード大学生物学教室研究員。1984年 名古屋大学アイソトープ総合センター助手。1993年～1998年 岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所客員助教授。1991年より現所属 [植物(食糧)細胞工学研究室助教授(研究室主任)]。研究テーマ：光合成の機能構築制御機構。関心事：環境ストレス応答を含めたレドックス制御による植物の恒常的機能維持能力。