

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：12102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24870005

研究課題名(和文) 紅色植物系統におけるルビスコ転写制御機構の進化

研究課題名(英文) Regulation of Rubisco operon in red algal lineage

研究代表者

蓑田 歩 (MINODA, Ayumi)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：10597280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円、(間接経費) 660,000円

研究成果の概要(和文)： 紅色植物系統の葉緑体ゲノムに保持されているYcf30は、光合成の獲得と共に、ラン藻から葉緑体に受け継がれた転写因子である。以前に、申請者は、*in vitro*実験により、Ycf30が、葉緑体内の光合成代謝物の量の変化を感知して、ルビスコの転写活性化を行うモデルを提唱した。本研究では、環境変化に応答した代謝産物量の分析を行い、上記のモデルを支持する結果を得た。ラン藻から葉緑体へ引き継がれた転写因子、Ycf30は、環境変化によって変動する光合成代謝産物量を感知して、ルビスコの転写制御を行い、光合成の最適化を行っている。それは、光合成を担うオルガネラ、葉緑体の誕生にも重要であったと考えられる。

研究成果の概要(英文)： During evolution, ancestral plastids arose from a single endosymbiosis and have lost their autonomy through integration into the eukaryotic cell. However, a transcription factor, Ycf30 is retained in currently known plastid genomes of red algal and Glaucophyte lineages. Previously, we suggested transcriptional activation model of Rubisco operon by Ycf30 through sensing of photosynthetic metabolites in response to the environmental changes.

In this report, to test the model *in vivo*, we analyzed metabolites in response to the environmental changes. During the shift from high CO₂ condition to air condition, 3-PGA and RuBP were specially accumulated. This result is agreed with the model suggested previously. Ycf30 senses the change in the accumulations of photosynthetic metabolites and activates the transcription of Rubisco operon in response to the environmental changes. Red algal plastidial transcription factors represent the last relics of the autonomy of the ancestral plastid.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：ルビスコ 紅藻 Ycf30 葉緑体 転写制御

1. 研究開始当初の背景

全ての光合成真核生物は、たった一つの非光合成生物の光合成能の獲得に由来することは広く知られている。しかし、現在、「どのように光合成が非光合成生物の主要炭素代謝経路となったのか？」という問いに対する答えはない。光合成能の獲得には、光合成を制御する光合成制御機構の獲得が必須である。

申請者は今まで、非光合成生物による光合成能の獲得のしくみを明らかにすることを最終目的として、紅色植物系統の葉緑体ゲノムに保持された、シアノバクテリア由来の転写因子 Ycf30 の研究を進めてきた。

Ycf30 は、緑色植物系統では失われてしまったのに対して、紅色植物系統と灰色植物の葉緑体ゲノムに保持されている。つまり、Ycf30 は、約 16 億年前に、非光合成生物の細胞内に共生したシアノバクテリアが葉緑体となり、全ての光合成真核生物の共通祖先が誕生した時に、光合成能獲得と同時に、光合成真核生物が獲得した光合成制御因子である。

申請者は、紅藻のモデル生物として、研究材料として、単細胞紅藻の *Cyanidioschyzon merolae* の核ゲノムの決定、形質転換、培養系の確立、オルガネラオリゴアレイの作成を行った(Matsuzaki et al. 2003, Minoda et al. 2004, Yagisawa et al. 2004, Imamura et al. 2010, Kanasaki et al. 2012)。そして、*C. merolae* の葉緑体遺伝子のマイクロアレイを作成して、葉緑体遺伝子群の転写解析を行ない、紅藻の葉緑体の転写制御機構が、高等植物とは異なり、シアノバクテリア同様に、主に転写レベルで制御されていることを示

した(Minoda et al. 2005)。さらに、紅藻の単離葉緑体の実験系と葉緑体 *in vitro* 転写制御活性測定系を確立し、Ycf30 は、葉緑体内の光合成産物の蓄積をシグナルとして感知して、ルビスコの転写活性化を行なう、葉緑体内シグナル伝達系を形成しており、それは、核のシグナル伝達系からは独立しているというモデルを示した(Minoda et al. 2010)。そこで、本研究は、多重共生による種の多様化が顕著な紅色植物系統において、ルビスコ転写活性化因子 Ycf30 によるルビスコ遺伝子の転写制御機構に焦点を絞り、非光合成生物の光合成能の獲得により起こる光合成制御機構の獲得についての理解を目指す。

2. 研究の目的

全ての光合成真核生物は、たった一つの非光合成生物の光合成能の獲得に由来することは広く知られている。しかし、現在、「どのように光合成が非光合成生物の主要炭素代謝経路となったのか？」という問いに対する答えはない。光合成能の獲得には、光合成を制御する光合成制御機構の獲得が必須である。そこで、本研究は、多重共生による種の多様化が顕著な紅色植物系統において、ルビスコ転写活性化因子 Ycf30 によるルビスコ遺伝子の転写制御機構に焦点を絞り、非光合成生物の光合成能の獲得により起こる光合成制御機構の獲得についての理解を目指す。

3. 研究の方法

ルビスコの転写活性化が顕著に起こる、光照射時と、高 CO₂ から低 CO₂ にシフトした時の代謝産物量の変化を CE-MS により分析した。

4. 研究成果

光照射時の代謝産物量を調べたところ、シグナルとして機能していると考えられた NADPH, 3-PGA, RuBPを含む多くの代謝産物量が増加していた(図1)。

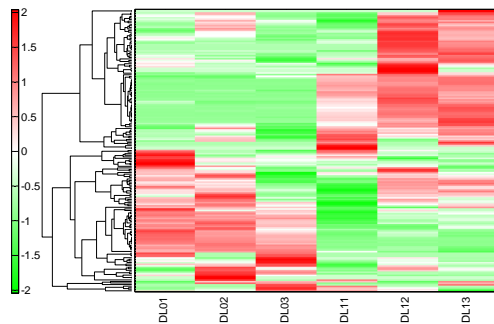


図1. 光照射に伴う代謝産物の変化

それに対して、ルビスコの転写活性化が特異的に起こる、高CO₂から低CO₂にシフトした条件では、NADPHや他の多くのカルビンサイクルの代謝物量が変わらないのに対して、3-PGA, RuBP量は増加した。

これらの結果から、NADPHは、光照射時に YC30の転写を活性化するシグナルとして機能している可能性はあるが、CO₂濃度の変化にตอบสนองしたRubiscoオペロンの転写活性化に寄与している可能性は低いと考えられた。それに対して、3-PGAとRuBPは、多くの代謝産物の蓄積が観察される光照射時だけでなく、CO₂濃度の低下時に、その顕著な蓄積が観察されたことから、Ycf30の転写活性化のシグナルとして機能している可能性が高く、in vitroでもルビスコの転写活性化モデルと一致した。光照射やCO₂濃度の変化といった環境変化にตอบสนอง

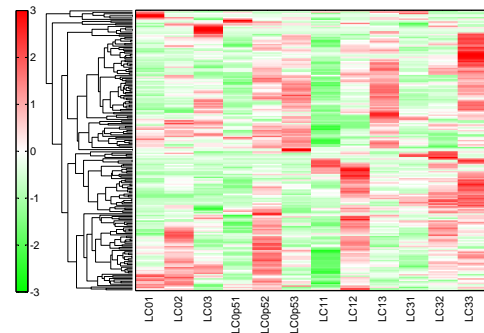


図2. CO₂濃度変化に伴う代謝産物の変化

して、葉緑体内の3-PGAとRuBPの濃度の上昇を感知して、Ycf30はルビスコの転写活性化を行っている。ラン藻から葉緑体へ引き継がれた転写因子、Ycf30による光合成の最適化は、光合成を担うオルガネラ、葉緑体の誕生にも重要であったと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2件)

- (1) Takuma Shiratake, Atsushi Sato, Ayumi Minoda, Mikio Tsuzuki, Norihiro Sato (2013) Air-drying of cells, the novel conditions for stimulated synthesis of triacylglycerol in a green alga, *Chlorella kessleri*. *ProS One* 8(11) e79630 DOI: 10.1371/journal.pone.0079630 (査読有)
- (2) Yu Kanesaki, Sousuke Imamura, Ayumi Minoda, and Kan Tanaka (2012) External

Light Conditions and Internal Cell Cycle
Phases Coordinate Accumulation of
Chloroplast and Mitochondrial Transcripts
in the Red Alga *Cyanidioschyzon merolae*.
DNA Res 19 (3): 289-303 (査読有)

〔学会発表〕(計2件)

- (1) 蓑田 歩、山本高郁、鈴木石根、都筑
幹夫 硫酸性温泉紅藻 *Galdieria*
sulphuraria によるランタノイドの回
収 生物工学会 2012.10.24 神戸

- (2) 蓑田 歩、山本高郁、都筑幹夫 循環型
エネルギーを利用した硫酸性温泉紅藻
Galdieria sulphuraria によるレアメ
タル回収システム 日本鉄鋼協会 環
境・エネルギー・社会工学部会シンポ
ジウム「パイロリサイクル2」
2012.9.18 松山

6. 研究組織

(1) 研究代表者

蓑田 歩 (MINODA, Ayumi)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：10597280