

紅色細菌に見るレドックスと光シグナルの受容と伝達の分子メカニズム

増田 真二（東京工業大学・生命理工学研究科）

shmasuda@bio.titech.ac.jp

はじめに

紅色細菌は呼吸と光合成という2つのエネルギー獲得様式を、酸素と光の環境変動に応じて使い分ける。酸素存在下ではミトコンドリアとほぼ同様の呼吸鎖に依存した好気呼吸を行ない、嫌気条件下では呼吸鎖と共存した光合成電子伝達鎖による光リン酸化反応を行なう。酸素分圧の減少が引き金となり光合成器官の構築が進み、好氣的生育から光合成生育へシフトする。この誘導は段階的であり、微好気条件下においてもある程度の光合成器官の構築が進む。このような酸素と（バクテリオ）クロロフィルが共存した状態になると、光照射による一重項酸素生成の可能性が生じる。おそらくそれを避けるために、微好気条件下では光強度増加に伴う光合成器官構築の抑制も観察される。この酸素と光に依存した光合成器官構築に関する研究の歴史は半世紀にわたり、近年電子伝達系レドックスおよび光に応答するセンサータンパク質の同定によりその理解は急速に進んだ。本講演ではそれぞれの形質を司るセンサータンパク質のシグナル感知と情報伝達に関する最近の知見を紹介する。

1) 光合成遺伝子の転写を活性化する2成分制御系のレドックス感知機構

嫌気条件下で光合成遺伝子の転写を活性化する因子として、RegA/Bと名付けられた2成分制御系が見つかっている（図1）。センサーキナーゼRegBのN末端側は6回膜を貫通しており、外界の酸素分圧の低下により細胞質側にあるC末端領域の自己リン酸化反応を活性化する。リン酸化型RegBはレスポンスレギュレーターRegAをリン酸化し、リン酸化されたRegAは光合成遺伝子のプロモーターを活性化する。その結果として嫌気条件下で光合成器官の構築が進む。ではRegBの自己リン酸化はどのように制御されるのであろうか？この答えはながらく謎であったが、最近RegBタンパク質の生化学的解析からそのメカニズムが明らかとなってきた¹⁾。

精製したRegBタンパク質の自己リン酸化反応は、酸化型ユビキノンの添加により直接阻害されることがわかった。トリチウムラベル体キノンをを用いた結合実験から、ユビキノンの結合部位は3回目と4回目の膜貫通ヘリックスの間に保存されたGGXXNPFのモチーフであると考えられた。ユビキノンのレドックス状態は呼吸活性や光合成で供給される還元力の大きさに依存しており、それ自体がシグナルとなり光合成器官の合成制御が行なわれることは理にかなっている。

ユビキノンがRegBの自己リン酸化を制御する機構は2つのモデルが考えられてい

る。1つはユビキノンが結合することでアロステリックな効果により RegB の活性を調節するもので、この場合キノンと Phe との π 結合同士の相互作用や酸化型キノンと Asn との水素結合により RegB の活性が変化する可能性が考えられる。もう1つは結合した酸化型ユビキノンを特定のシステイン残基のジスルフィド結合形成の酸化力として用いるとするモデルである。細胞質側の RegB には活性の調節に必須でありかつ高度に保存されたシステインが存在する²⁾。この残基は好気条件下において分子間ジスルフィド結合を形成し自己リン酸化反応を抑制することがわかっている。このシステインのジスルフィド結合の形成や解離がキノンのレドックス変化に応じて行なわれる可能性が考えられる。

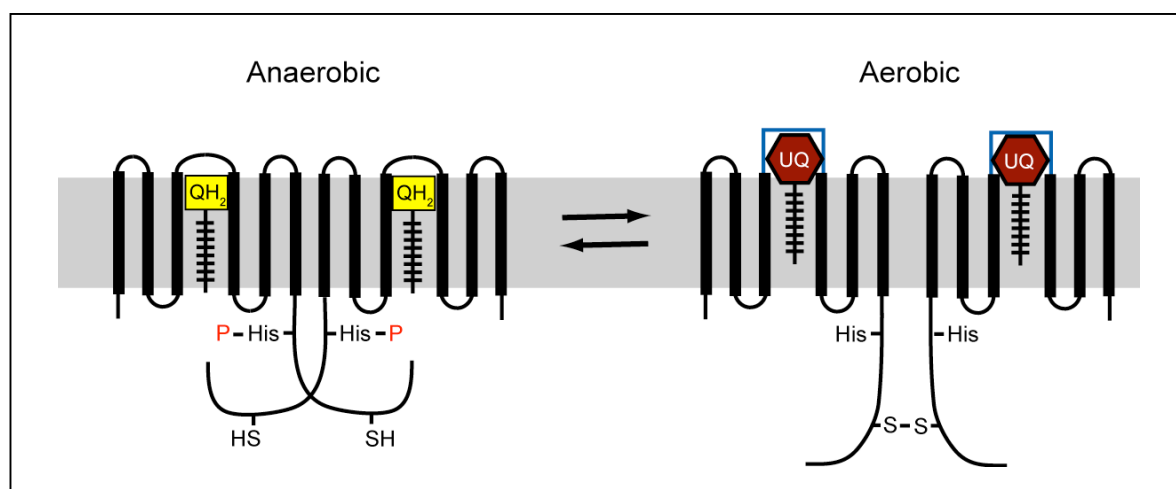


図1 ユビキノンによる RegB 自己リン酸化活性の調節機構モデル

2) 光合成遺伝子の転写を調節する光受容体の光シグナル伝達機構

微好気条件下においては、波長依存的な光合成遺伝子の転写レベルの抑制が観測される。その作用スペクトルは光合成反応のそれと異なり、*Rhodobacter* 属では青色光、*Rhodopseudomonas* 属や *Bradyrhizobium* 属では赤色光に対し顕著に応答する。このことから、この光応答には光合成電子伝達鎖は無関係であり、なんらかの光受容体が関与することが示唆されていた。

近年この青色光応答に関与する光受容体として、AppA と呼ばれるタンパク質が *Rhodobacter sphaeroides* から同定された³⁾。AppA は約 45kDa からなるタンパク質で、N 末端に 1 分子のフラビンを非共有結合している。生化学的解析から AppA は暗条件下において光合成遺伝子特異的なリプレッサー PpsR と複合体を形成し、PpsR の DNA 結合能を阻害することがわかった (図 2)。光照射時にはこの相互作用は見られなくなることから、フラビンが光を吸収するとアポタンパク質が何らかのコンフォメーション変化を起こし PpsR との相互作用能を失うと考えられる。

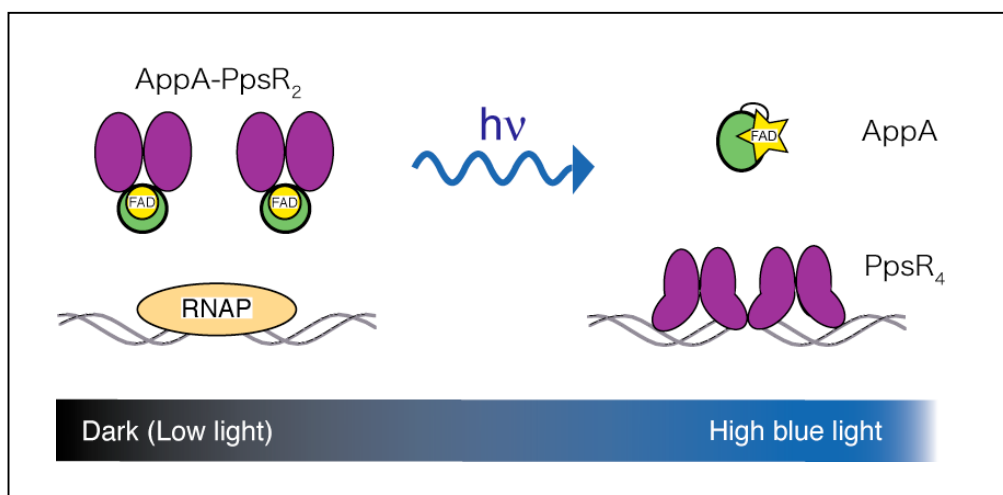


図2 AppA と PpsR による光依存的な光合成遺伝子発現制御のモデル

AppA に光を照射すると発色団（フラビン）の紫外可視光吸収スペクトルが 10nm 程長波長シフトする特徴的な光サイクル反応を示す（図3 A）。この光サイクル反応の経時変化は、試験管内での AppA の活性変化と同調している。では光サイクル反応時に AppA に結合している発色団およびアポタンパク質にどのような構造変化が起こるのであろうか？我々は AppA のフラビン結合ドメインの結晶構造（図3 B）と様々な分光学的データから、1）光照射によりフラビン環 O4 と Gln63 との間に新たな水素結合が形成されること^{4),5)}、2）この水素結合形成により紫外可視光吸収スペクトルが長波長シフトすること^{5),6)}、3）引き続き Trp104 を介して β シートのコンフォメーションが変化すること⁷⁾、を明らかにした。光照射後どのように水素結合のネットワークが変化するのははっきりしていないが、Tyr21 または Trp104 から光励起状態のフラビンへの電子移動（と引き続くプロトン化）の可能性が指摘されている。

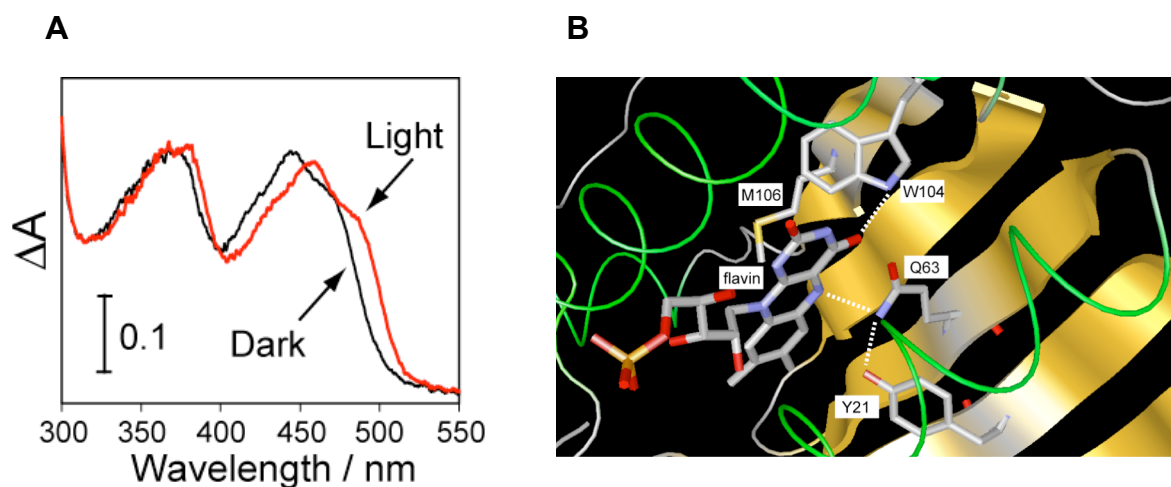


図3 AppA の吸収スペクトル(A) とフラビン結合ドメインの結晶構造(B)

一方赤色光に応答する *Rhodopseudomonas* 属や *Bradyrhizobium* 属のゲノム上には、PpsR とオペロンを組む形でフィトクロム様タンパク質遺伝子が存在している⁸⁾。このタンパク質は他の細菌型フィトクロムと異なり、自己リン酸化部位を持たない。代わりにタンパク質相互作用に関与する PAS ドメインを持つことから、このフィトクロムは赤色光依存的に PpsR と相互作用することで光合成遺伝子発現を調節すると考えられている。紅色細菌は光合成の効率をできる限り高く保つように、生育する光環境に応じて PpsR の抗転写因子として機能する様々な光受容体を進化させてきたのであろう。

おわりに

紅色細菌を用いた研究で、細胞がレドックスや光環境の変動を感知する機構が分子レベルで明らかとなってきた。電子伝達系のレドックスを検知する機構は、葉緑体やミトコンドリアにおいてもその存在が示唆されている。エネルギー代謝の中核をなす分子をシグナルとし、必要な遺伝子の発現を調節する機構はあらゆる生物にとって重要なものと考えられる。紅色細菌のユビキノンを介したシグナル伝達に関する研究は、そのような研究に対し有用な指針を与えることが期待される。

AppA は発色団と特定のアミノ酸側鎖との水素結合ネットワークを変化させることで、光情報をタンパク質情報に変換している。これは多くの光受容体が、発色団の光異性化によって情報処理を行うことと対照的であり、きわめて特異な性質といえる。AppA のフラビン結合ドメインは近年 BLUF と名付けられ、多くの微生物種に保存された新規の青色光受容体であることがわかってきた。その中でも光受容から遺伝子発現制御に至る全過程を明らかにするモデルとして、紅色細菌を用いた AppA の研究は今後も重要なものになっていくと思われる。

参考文献

- 1) Swem et al. (2006) *J. Biol. Chem.* 281: 6768-6775
- 2) Swem et al. (2003) *EMBO J.* 22: 4699-4708
- 3) Masuda & Bauer (2002) *Cell* 110: 613-623
- 4) Masuda et al. (2005) *Biochemistry* 44: 1215-1224
- 5) Unno et al. (2005) *J. Phys. Chem. B* 109: 12620-12626
- 6) Hasegawa et al. (2005) *Plant Cell Physiol.* 46: 136-146
- 7) Masuda et al. (2005) *Plant Cell Physiol.* 46: 1894-1901
- 8) Giraud et al. (2002) *Nature* 417: 202-205