

クロララクニオン藻の高発現機能未知タンパク質に関する研究

福田 耕大（筑波大学 生物学類） 指導教員：平川 泰久（筑波大学 生命環境系）

【研究の背景】

葉緑体がシアノバクテリアの細胞内共生により誕生したことには広く知られており、葉緑体内ではシアノバクテリア由来のタンパク質が多く機能している。葉緑体タンパク質の多くは核遺伝子にコードされており、一般的にその転写量は高く、概日周期で変動することが知られている。中でも、炭素固定反応に関連する酵素や光化学系タンパク質の発現量は極めて高く、厳密に発現制御されている。モデル植物において数千あると言われる葉緑体タンパク質の中には、シアノバクテリア以外に起源をもち、機能が明らかにされていないものも多く存在している。これらのタンパク質の起源や機能を明らかにすることは、葉緑体進化を理解するうえで重要な鍵となると考える。

本研究で用いたクロララクニオン藻類は海産の単細胞藻類で、緑藻の細胞内共生（二次共生）により二次葉緑体を獲得したグループである。先行研究で行われたトランスクリプトーム解析により、本藻の一種 *Bigelowia natans* の核遺伝子の約 1/3 は概日周期で発現変動する DEG (differentially expressed gene) であり、その中には多くの葉緑体タンパク質の遺伝子が含まれることが解っている (Suzuki et al. 2016)。本研究では、*B. natans* の約 7,000 ある DEG の中でも発現量の高いものに着目し、クロララクニオン藻における未知の葉緑体タンパク質の探索を行った。

【結果①：高発現の機能未知葉緑体タンパク質の探索】

B. natans の DEG の中で、概日周期を通して転写量の高い遺伝子を見ると、上位 50 番までの遺伝子の約 8 割が葉緑体の光合成関連タンパク質をコードしていた。その中で、40 番目に高い転写量を示す遺伝子は、これまでに報告されている葉緑体タンパク質配列と相同性がなく、機能未知タンパク質であった。この 607 amino acids のタンパク質を HEP40 (Highly Expressed Protein 40) と呼称する。概日周期を通じた HEP40 の発現変動パターンは、他の光合成関連遺伝子と類似しており、暗期後半から明期前半にかけて発現上昇するものであった。また、HEP40 の N 末端には葉緑体へ輸送されるタンパク質に特有の輸送シグナル配列が予測された。

【結果②：細胞内局在の解析】

HEP40 の細胞内局在を明らかにするため、緑色蛍光タンパク質 GFP を用いて解析を行った。HEP40+GFP の融合タンパク質は葉緑体に局在し、ストロマ内的一部に集積しているように見えた（図 1）。この局在パターンは、これまでクロララクニオン藻で報告されている葉緑体タンパク質のものとは異なっていた。この結果は、HEP40 が新規葉緑体タンパク質であることを強く示唆するものであった。

【結果③：相同性検索による起源の推定】

HEP40 に相同的なタンパク質が他の生物にも存在するのかを検証するため、利用可能なゲノム配列とトランスクリプトーム配列を用いて Blast 検索を行った。葉緑体をもつ渦鞭毛藻やハプト藻、不等毛藻、緑藻、ユーグレナ藻を含む藻類グループで、HEP40 に相同的な配列が検出された。一方、陸上植物や動物、菌類、また従属栄養の原生生物からは相同配列が検出されなかった。HEP40 に相同的な配列が多様な光合成真核藻類に保存されていることから、このタンパク質が葉緑体と深い関わりをもつことが考えられる。また、HEP40 の相同配列は、シアノバクテリアを含む多様なバクテリアからも検出され、それらは COG4337 と呼ばれる機能未知な配列（約 160AA）として登録されていた。興味深いことに、真核藻類で検出された遺伝子は、どれも複数の COG4337 配列を含んでおり、HEP40 は 3 つの COG4337 が tandem にリピートする配列であった。クロララクニオン藻の HEP40 の起源はバクテリアの機能未知遺伝子 COG4337 であり、おそらく遺伝子重複により、葉緑体で機能するタンパク質へと進化したのだと考えられる。

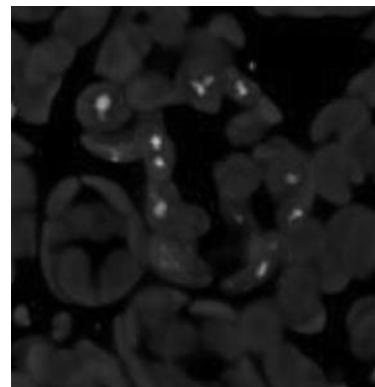


図 1. HEP40+GFP の融合タンパク質を発現するクロララクニオン藻 *Amorphochlora amoebiformis* の細胞の共焦点顕微鏡像。葉緑体の自家蛍光（グレー）の内部で HEP40+GFP（白色）の蛍光が観察された。

【今後の展望】

クロララクニオン藻の HEP40 に特異的な抗体を現在作製しており、免疫電子顕微鏡でより詳細な局在解析を行い、このタンパク質の機能の推定を試みる予定である。

【引用文献】

- Suzuki S, Ishida K, Hirakawa Y (2016) Diurnal transcriptional regulation of endosymbiotically derived genes in the chlorarachniophyte *Bigelowia natans*. *Genome Biol Evol* 8: 2672-2682.