

## 養殖ノリの環境ストレス応答機構

瀧尾 進

ノリ養殖に利用されている紅藻スサビノリ (*Porphyra yezoensis*) は、我国の海水面養殖産業における重要な資源植物のひとつである。ノリ養殖は日本各地で行われているが、なかでも有明海・八代海は生産量の高さだけでなく高品質のノリを生産する点で貴重な海域である。養殖ノリの品種は、より高生産、高品質をめざして改良が進められてきたが、近年の沿岸域環境の変異により新たな取組みも必要となってきた。特に、養殖期の海水温上昇や赤潮などによる「ノリの色落ち」問題は深刻であり、環境変異に強い品種の開発が進められている。ノリの色調は商品価値を決定する最も重要な形質であることから、約20年前までは「ノリの色」に関する生理学的研究は活発に行われていた。しかし、養殖技術の発展により生産量が増大・安定化するにつれ研究者は減少してきていた。一方、スサビノリは実験生物として有用な特徴をもつことからモデル生物化にむけた基礎研究も進められ、近年になり遺伝子解析の基礎技術も開発され、新たな展開が生まれつつある。我々は、2001年の沿岸域センター設置を機に「養殖ノリの環境ストレス応答機構」について遺伝子レベルでの研究を開始した。とくに「内在性レトロトランスポゾンを用いた新品種の作出」(文献1~4)と「色落ちの分子機構解明」(文献5)を中心テーマとして研究を進めている。今回は、「養殖ノリ色落ちの分子機構」に関する研究の一部を紹介したい。

### 「ノリの色」について

植物は外部環境の変化に対しさまざまな応答を示す。なかでも、エネルギー生産の場である葉緑体では反応中心複合体やアンテナ色素複合体は光条件だけではなく栄養欠乏などの各種ストレスにも応答しダイナミックな変動を示す。紅藻やラン藻はフィコエリスリンやフィコシアニンなどの光合成色素タンパクより構成される光合成アンテナ装置(フィコビリソーム)をもつ(図1)。紅藻類は紅色色素であるフィコエリスリンを多量にもつため植物体は紅色を呈する。しかし、赤潮プランクトンの発生などにより海水中の栄養窒素濃度が低下するとフィコビリソームが分解して、いわゆる「色落ち」が起こる。

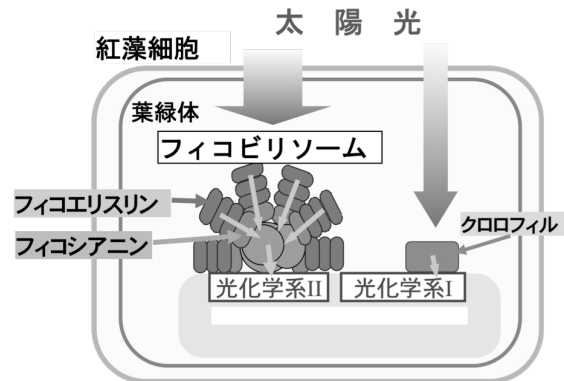


図1 紅藻の光合成アンテナ装置

### ラン藻の「色落ち誘導遺伝子」

フィコエリスリン遺伝子 (*Cpe*) やフィコシアニン遺伝子 (*Cpc*) は富栄養状態では活発に発現しているが、窒素欠乏などの栄養欠乏条件では発現が停止し、フィコビリソームの分解が起こる(図2)。

ラン藻では窒素欠乏時にも退色しない変異体が分離され、その原因遺伝子のひとつとして *Nb1A* (*non-bleaching A*) が同定されている。*Nb1A* は通常の栄養状態では発現が強く抑制されているが、窒素欠乏、リン欠乏、イオウ欠乏などの栄養欠乏により発現が増大しフ

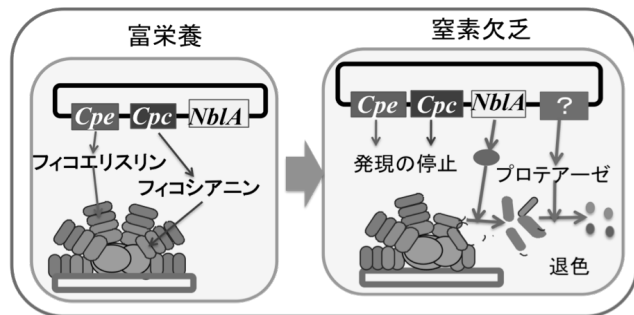


図2 ラン藻の窒素欠乏によるフィコビリソーム分解

イコビリソームの分解を誘導する。Nb1A は約 60 アミノ酸からなる小さいタンパク質でフィコビリソームタンパク質との結合により分解を誘導すると推定されている。Nb1A はプロテアーゼ活性をもたないことから、フィコビリソームの分解に働くプロテアーゼが存在するはずであるが、その実体は不明である。

### スサビノリ葉緑体遺伝子の発現様式

スサビノリの葉緑体ゲノムにはラン藻 *Nb1A* と相同性のある遺伝子 *Ycf18* がコードされているが、その機能は不明であった(図3)。我々は、スサビノリの栄養欠乏による色落ちの仕組みを知るために、*Ycf18* 遺伝子がどのような環境条件で発現するのか調べてきた。

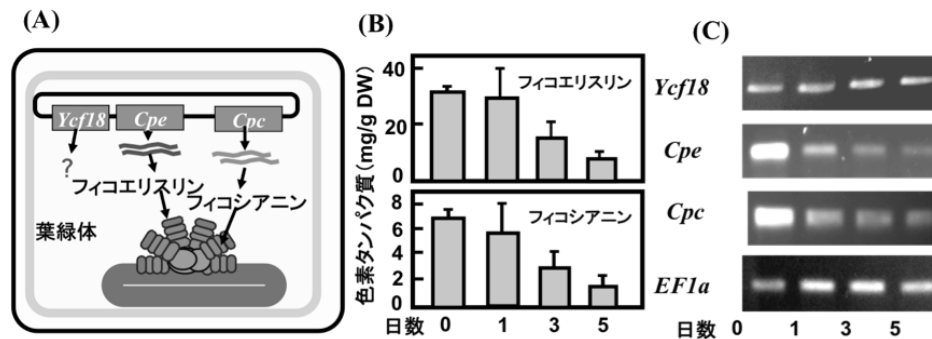


図3 スサビノリの葉緑体遺伝子(A)と窒素欠乏によるフィコビルタンパク質量(B)と遺伝子発現量(C)の変化

スサビノリ *Ycf18* 遺伝子はフィコエリスリン遺伝子(*Cpe*)の隣にコードされていた(図3A)。スサビノリを通常の培養液から窒素源を完全に除去した培養液に移すと、5日後にはフィコエリスリンやフィコシアニンの色素タンパク量は通常の30%以下に減少した(図3B)。フィコエリスリン遺伝子やフィコシアニン遺伝子の発現量は窒素欠乏に移して1日目から減少していたが、*Ycf18* 遺伝子の発現量は変化しなかった(図3C)。その後、*Ycf18* 遺伝子の発現を誘導する培養条件の検索を続け、*Ycf18* はラン藻 *Nb1A* とは異なり、窒素欠乏には応答せず、栄養窒素を硝酸塩からアンモニアに切り替えると発現が誘導されるという奇妙な性質をもつことが明らかになった(文献5)。スサビノリの培養には窒素源として硝酸塩のみを含む人工海水を使用しているが、窒素源をアンモニアに切り替えても正常に生育し、藻体の色調も顕著な変化は見られなかった。アンモニア培養における *Ycf18* の機能は不明のままであるが、少なくとも窒素欠乏におけるフィコビリソーム分解には *Ycf18* は関与していないと考えられた。

フィコビリソーム分解に特異的に働くプロテアーゼが存在するのか? この問題は紅藻だけでなくラン藻においても未だ解決されていない。タンパク質の分解過程では、変成タンパク質のプロテアーゼによる除去反応とシャペロン(熱ショックタンパク質)による変成タンパク質の修復反応が連動していることが多い。スサビノリ葉緑体ゲノムにはプロテアーゼ遺伝子が1つ(*FtsHe*)、シャペロン遺伝子が2つ(*ClpC*と*GroELc*)コードされている。また、スサビノリ EST 公開情報には葉緑体移行シグナル配列をもつシャペロン遺伝子

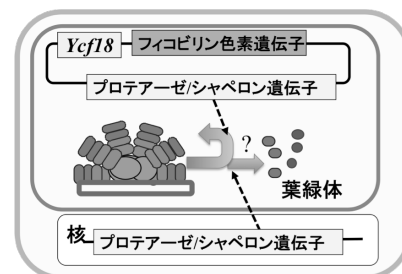


図4. スサビノリのシャペロン/プロテアーゼ遺伝子

(*DnaK1*, *GroEL1*, *ClpB1*) とプロテアーゼ/ペプチダーゼ遺伝子 (*ClpP2*, *FtsH1/SppA1*) が見いだせた(図4)。これらの遺伝子の窒素欠乏に対する発現応答を調べたところ、*ClpB1* と *DnaK1* の発現は窒素欠乏により著しく増大することが明らかになった(図5)。酵母や細菌では、*ClpB* (*Hsp101*) と *Hsp70* (*DnaK*) は複合体を形成し、熱ストレス条件下で生じた変成タンパクの再生に働いている。植物にも *ClpB/Hsp101* は存在し、全遺伝子情報が解読されているモデル植物のシロイヌナズナには、少なくとも細胞質、ミトコンドリア、葉緑体と細胞内局在部位の異なる遺伝子が存在する。これらはいずれも熱ストレスに応答して発現が増大するが、葉緑体局在型 *ClpB/Hsp101* 遺伝子を破壊すると、実生や葉緑体の発達が阻害されることから、*ClpB/Hsp101* は単に熱ストレス耐性だけではなく、葉緑体の正常な発達に必須の役割をもつと推定されている。スサビノリの *ClpB1* と *DnaK1* は、通常状態では発現が著しく低く窒素欠乏により誘導されることから、その機能はストレス耐性に関与する可能性がある。しかし、培養液に高濃度の硫酸銅を添加すると、フィコエリスリンやフィコシアニン遺伝子の発現は停止し、数日後には著しく退色する。銅添加によっても窒素欠乏処理と同様にフィコビリソーム分解がみられるが、このとき *ClpB1* の発現は増大しなかった。*ClpB1* と *DnaK1* は窒素欠乏以外にどのようなストレス種に応答するのか、現在検討中である。

私たちは、紅藻スサビノリがもつ「色落ちの仕組み」のうち少なくとも一部は、葉緑体の祖先であるラン藻から受け継がれていることを期待していた。その理由のひとつは、ラン藻 *Nb1A* と同源性のある遺伝子 *Ycf18* がスサビノリを含むすべての紅藻の葉緑体ゲノムに保存されていたことである。さらに、*Nb1A* の発現調節に働く転写因子 *NtcA* と同源性のある遺伝子 *Ycf28* がスサビノリ葉緑体ゲノムに存在したことも期待した理由のひとつである。しかし、残念ながらスサビノリのこれらの遺伝子は窒素欠乏には応答せず、未だ機能は不明のままである。一方、スサビノリの窒素欠乏により発現が誘導されたプロテアーゼ/シャペロン遺伝子(*ClpB1*, *DnaK1*)は核ゲノムにコードされていた。これらの遺伝子がフィコビリソーム分解過程に特異的に働くのかを確認する必要があるが、スサビノリの栄養欠乏によるフィコビリソーム分解はラン藻とは異なる独自のシステムにより制御されている可能性が高くなった。

## 文献

- (1) Zhang, W., Sakai, S., Lin, X., Takechi, K., Takano, H., Takio, S. 2006. Reverse transcriptase-like sequences related to retrotransposon in a red alga, *Porphyra yezoensis*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70:1999-2003.
- (2) Zhang, W., Lin, X., Suresh, P., Takechi, K., Takano, H., Takio, S. 2007. Characterization of short interspersed elements (SINEs) in a red alga, *Porphyra yezoensis*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 71:618-622
- (3) Peddigari, S., Zhang, W., Sakai, M., Takechi, K., Takano, H., and Takio, S. 2008. A *copia*-like retrotransposon gene encoding gypsy-like integrase in a red alga, *Porphyra yezoensis*. *J. Mol. Evol.* 66:72-79.
- (4) Peddigari, S., Zhang, W., Takechi, K., Takano, H., and Takio, S. 2008 Two different clades of *copia*-like retrotransposons in the red alga, *Porphyra yezoensis*. *Gene* 424:153-158.
- (5) Kawakami, T., Sakaguchi, K., Takechi, K., Takano, H. and Takio, S. 2009. Ammonium induced expression of the red algal chloroplast gene *Ycf18*, a putative homolog of the cyanobacterial *Nb1A* gene involved in nitrogen deficiency-induced phycobilisome degradation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (in press)

キーワード: 養殖ノリ色落ち, 遺伝子, 葉緑体, 光合成

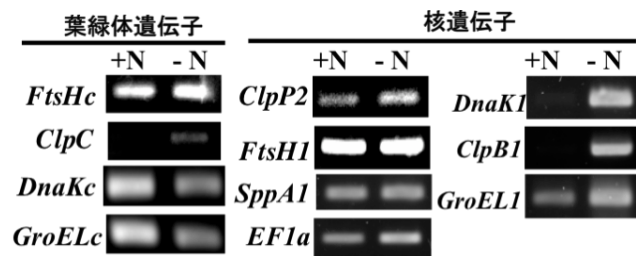


図5 プロテアーゼおよびシャペロン遺伝子の窒素欠乏下での発現