

Thermus thermophilus HB27 の光応答Photoresponse of *Thermus thermophilus* HB27高野英晃¹、山崎竜大¹、袴田航¹、中村颯²、星野貴行²、別府輝彦¹、上田賢志¹Hideaki Takano¹, Ryuta Yamazaki¹, Wataru Hakamada¹, Akira Nakamura², TakayukiHoshino², Teruhiko Beppu¹, Kenji Ueda¹¹日大・生命セ, ²筑波大・院・生命環境)¹Nihon Univ., ²Univ. of Tsukuba)e-mail: takano@brs.nihon-u.ac.jp

光は地球における普遍的な環境因子の一つであり、生物はその光から細胞を防御するためのシステムを備えている。各種のカロテノイド(Crt)の生産は光に対する防御システムの一つであり、植物や微生物など多様な生物によって合成されることは良く知られている。このような生物の光応答は、植物や光合成細菌を対象に古くからよく研究されてきたが、一方で、光合成を行わない細菌(一般細菌)の光応答は、現象そのものの報告が少なく、粘液細菌の Crt 生産の光誘導がよく研究されている程度である。しかし、近年のゲノム情報の拡大に伴って、植物光受容体のホモログが一般細菌にも広く分布することが明らかになってきており、バクテリアの光応答性の潜在的な多様性が示唆されている。我々は、抗生物質を生産することで知られる土壌細菌の放線菌を対象とした研究において、放線菌が光依存的に Crt を生産すること、ならびにその中心的な転写調節蛋白 LitR を見出した^[1]。LitR が属する MerR ファミリーは、一般的にその機能を蛋白質に結合する低分子化合物に依存することが知られ、LitR のリガンドはビタミン B12 (VB₁₂) であることが予想されている。また、LitR は、放線菌のようなグラム陽性細菌のみならず、*Thermus thermophilus* をはじめとするグラム陰性細菌にも広くコードされ、一般細菌における光応答遺伝子の多様な分布が予想されている^[2,3]。

T. thermophilus の LitR ホモログは、巨大プラスミド上で crt 生合成遺伝子群と隣接してコードされ、興味深いことに、巨大プラスミド上には LitR のリガンドとして働くことが予想される VB₁₂ の生合成遺伝子クラスターもコードされていた。このようなゲノム情報から、本菌の Crt 生産も光によって誘導されることが予想されたが、これまでに本菌の Crt 生産に対する光の影響に関する報告はなかった。そこで、本菌の光応答を検討したところ、カロテノイド生産は、TM や LB 寒天固体培地では、明と暗条件間において大きな差は認められなかったが、TM 寒天固体培地にグルコースを 0.2% 添加した培地上では、暗条件の Crt 生産が顕著に抑制され、これにより Crt 生産の光誘導が確認された。

crt 遺伝子群に隣接してコードされる転写制御因子は、litR と cAMP レセプターホモログの TTP55 遺伝子であり、これらはオペロンを成している。LitR と TTP55 が光誘導の中心的な制御因子であると予想して進めてきた遺伝子破壊実験ならびに転写解析は、LitR が crtB の発現に対してリプレッサーとして作用すること、一方、TTP55 はアクチベーターとして作用することを明らかにした(図1)。この解析より、crtB プロモーターは光依存的に厳密に制御されているのに対して、litR オペロンは明条件下で約2倍の転写量が増加する程度であり、LitR と TTP55 は明・暗の両条件で比較的構成的に発現していることが予想された。破壊株の表現型から予想された LitR と TTP55 の機能は、大腸菌を宿主として発現・精製した組み換え蛋白を用いた実験によって確認され、LitR 蛋白は、crtB と litR 遺伝子間の一か所に結合することが判明した。一方、TTP55 は、*T. thermophilus* 由来の RNA ポリメラーゼホロ酵素との共存下において crtB プロモーターからの特異的なアクチベーター活性を示した。予想に反して cAMP はその転写誘導に必要な因子

として要求されなかった。これらの結果から予想されたことを図1にまとめた。暗条件においては、LitR は *crtB* プロモーターに結合し、その転写の開始を抑制する。一方、明条件では、LitR のリプレッサー活性が阻害されるため、TTP55 のアクチベーターとしての機能が許可され、*crt* 遺伝子群の転写が誘導される。

LitR を介した光依存的な転写制御において鍵を握る分子は、リガンドの VB₁₂ であることが予想される。ホモロジーモデリングから推測された LitR の立体構造は、VB₁₂ が結合するポケットの存在を強く示唆していた。このことを支持するように、VB₁₂ 生合成遺伝子クラスター破壊株は、*litR* 破壊株と類似の表現型を示し、明・暗の両条件下で *crtB* の構成的な転写ならびに Crt 生産を示した。ここで見られた VB₁₂ 破壊株における構成的な Crt 生産は、LitR への VB₁₂ の供給が滞ったことによって引き起こされた LitR のリプレッサー機能の消失が原因であると考えられ、VB₁₂ が LitR 機能に必要なリガンドとして作用することを強く示唆している。

放線菌と *T. thermophilus* は、生息環境や菌の性質が全く異なるにも関わらず、共通の転写調節蛋白 LitR を介して光誘導性のカロテノイド生産が制御されていることは、LitR が種を超えた普遍的な光応答性転写調節蛋白であることを意味している。それと同時に、LitR が光センサーそのものであると予想されるが、現時点では実験的な証明に至っていない。LitR ホモログは、ゲノムが決定されたバクテリアの約2割に保存されている。また、我々がこれまでに進めてきた多種のバクテリアを対象とした解析から、LitR によって発現レベルが調節される遺伝子は、カロテノイド生合成以外にも見つかってきており、一般細菌における光誘導性遺伝子の多様性を示唆している。

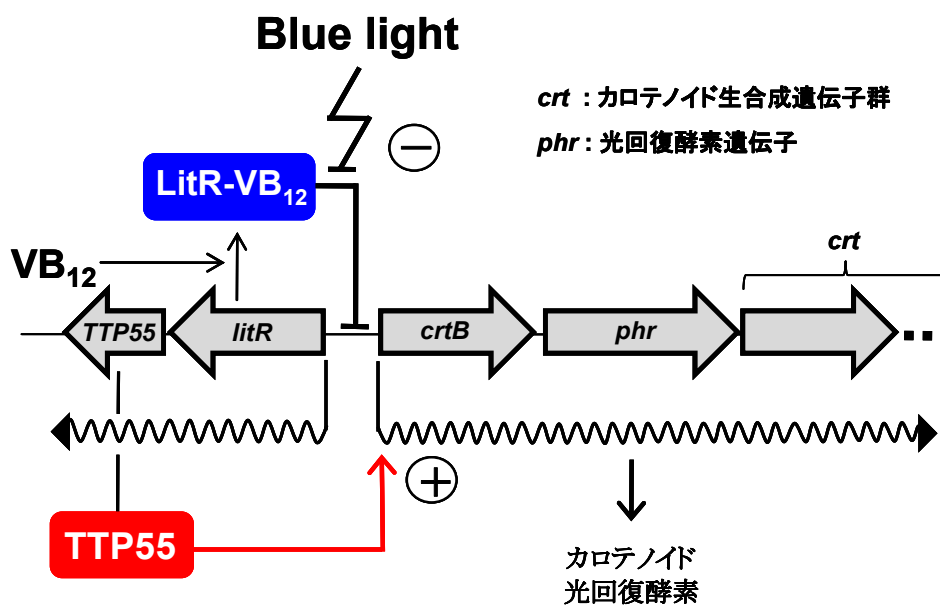


図1 *Thermus thermophilus*が生産するCrtの光誘導メカニズム

Reference

- [1] Takano H, Obitsu S, Beppu T, Ueda K. (2005) *J Bacteriol.*, 187, 1825
- [2] 上田賢志、高野英晃、白鳥初美、アスカー・ダラル、和辻智郎、別府輝彦 (2008) *BIO INDUSTRY*, 25-8, 47.
- [3] 高野英晃、別府輝彦、上田賢志 (2010) *化学と生物*, 48-2, 82-83