

論文審査の結果の要旨

緑川 貴文

本論文「Analysis of photosynthetic gene regulation in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803」(シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 における光化学系遺伝子制御機構の解析)は、3章構成である。第1章では、Rrf2 型新規転写因子 Slr0846 の役割を解析、第2章では、*slr0846*破壊株から単離した議事復帰変異株から見出した *psaA* コアプロモータの変異の解析、第3章では、*psaA* を含む多くの遺伝子の発現を調節する Hik8 と RpaA システムの解析を行ない、全体として光合成の光化学系 I 複合体の反応中心遺伝子 *psaA* の発現調節の研究成果をまとめて報告している。

植物やシアノバクテリアが行う酸素発生型光合成は、光化学系 I と系 II が直列につながり、それぞれ独自の集光装置を備えている。これらの光化学系が線状につながった電子伝達経路は水分子から電子を取り出し、二酸化炭素還元のための還元力と ATP を供給する。一方、系 I の周りには環状電子伝達経路があり、おもに ATP を供給する。そのため、それぞれの環境やエネルギー需要に応じて、系 I と系 II を過不足なく励起することが非常に重要である。このような調節は光合成装置の活性調節と装置をコードする遺伝子の発現調節の両方で行われている。本研究では、後者の調節を、もっとも代表的な系 I の反応中心遺伝子 *psaA* を用いて明らかにしたものである。

第1章では、*psaA* を調節する新規転写因子を同定した。これは Rrf2 型転写因子に属する Slr0840 で、シアノバクテリアに広く分布するこれまで機能不明の転写因子であった。これをコードする遺伝子 *slr0846* を破壊した株で、系 I 複合体の蓄積と *psaA* 転写産物の大幅な低下を見出した。転写開始点 P1 と P2 からの転写産物はどちらも低下していた。また、破壊株は通常の光条件で増殖が低下し、強光下ではとくに生存に必要であった。Slr0846 タンパク質を調製し、

psaA プロモータ DNA への結合をゲルシフト法で探索し、結合領域を推定した。

第2章では、*psaA* コアプロモータの-10/-35 配列のスペーサー領域の1塩基欠失変異が転写活性を上昇させることを見出した。1章で作製した *slr10846* 破壊株は中光において光合成増殖が遅く、この状態で長く培養することで、本疑似復帰変異株を多数取得した。これらの *psaA* プロモータ全域をシーケンスして、唯一の変異としてコアプロモータ P1 内部の1塩基欠失を見出した。これをレポータ遺伝子につないで、高い転写活性を確認した。また *psaA* の2つの転写開始点のうち、とくに P1 に強い影響を見出した。P1 コアプロモータの近傍には強光応答に関与する転写因子 RpaB が結合する HLR1-C 配列が存在するので、この変異プロモータの発現を調べ、強光応答性に影響がないことを確認した。本来 *psaA* プロモータはシアノバクテリアの遺伝子の中でもとくに転写活性のが高いが、この変異によってさらに活性が高くなるという興味深い結果である。また、シアノバクテリアの-35 配列は遺伝子によってははっきりせず、-35 配列との関係を示す点でも重要な知見である。

第3章では、*psaA* を含む多くの遺伝子の発現を調節する Hik8 と RpaA システムを明らかにした。従来、Hik8 はグルコース応答、別の種で Hik8 ホモログが RpaA にシグナルを伝えることが示されていた。本研究では、*Synechocystis* において、グルコースや光刺激に応答して Hik8 が RpaA を介して *psaA* や解糖系の遺伝子 *fda*, *gap1*, *fbaA* などの発現を誘導することを見出し、阻害剤 DBMIB で阻害される作用点をもつことなどを明らかにした。

なお、第1章は、松本浩二、成川礼、池内昌彦との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究の立案、遂行を行っており、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上の結果は、これまで重要と考えられていた光合成の反応中心の遺伝子 *psaA* の複雑な転写制御における新規の転写因子 *Slr0846* および RpaA の役割を解明し、コアプロモータの新たな特性を見出した点で、光合成の環境応答に大きな貢献をするものと認められた。したがって、本審査委員会は博士（理学）の学位を授与するにふさわしいものと認定した。