ミニレビュー

[Nippon Nōgeikagaku Kaishi Vol. 71, No. 12, pp. 1287~1291, 1997]

COP 1, COP 9 複合体による発現制御†

松 井 南

(理化学研究所フロンティア)

Key words : photomorphogenesis ; light signal transduction ; chloroplast development ; homeotic gene

光は植物にとって重要なエネルギー源であるのみならず、その形態形成において非常に重要な働きをしている。植物は動物のように自由に好きな環境に移動できないため、外界の環境変化に対して柔軟に対応していかなければならない宿命を持っている。特に光環境が、光合成によるエネルギーの確保という目的のためのシグナルとなるため、植物は、鋭敏な光受容システムを獲得している。この光受容システム、光受容体によって獲得された光シグナルは、細胞核内に伝えられ、種々の遺伝子発現を起こして、光源に向かう伸長成長、胚軸の屈曲運動を起こし、細胞内では葉緑体の分化、光合成系タンパク質の産生等を引き起こす。また植物は、光の偏向をも認識して葉緑体の細胞内での光源に対する配向を変える事が知られている。このように植物は、外環境因子としての光の照射量、照射頻度、照射時間、偏向、波長といったあらゆる情報を満遍なく取り入れるしくみを持っている。

1. 光形態形成

植物の芽生えは、光の有無によって異なった形態になることが知られている。植物の形態形成の研究材料としては、古くから、エンドウ、キュウリ、トマトが用いられているが現在は遺伝子解析のやり易さや、実験環境のスペースなどの利点から、シロイヌナズナが多く用いられている。このアブラナ科の双子葉植物の芽生えは、明所においては、展開した子葉と短い胚軸、分化した表皮系細胞が観察され、子葉細胞内において

は、葉緑体の分化が見られる。さらに光合成に関与するタンパク質の発現を観察することができる。これに対して、暗所で育った芽生えでは、未発達の子葉と長い胚軸、未分化の表皮系細胞が観察される。また光合成に関与する遺伝子の発現は、ほとんど観察されない。また葉緑体の分化は起こらず、エチオプラストにプロラメラボディーと呼ばれる結晶状の構造が子葉細胞内で見られる。

このように光の有無によって植物の芽生えはまったく異なった形態に発生するわけであるがこの過程、つまり光形態形成について、変異株をもちいた解析が近年進んでいる。

2. 光形態形成変異株 (表 1)

光形態形成変異株のうち、特に暗所での形態形成変異株について取り上げる。*det1* (*deetiolated 1*) 変異株は、1989年にSalk研究所のJoan Choryによって初めて単離されたシロイヌナズナの変異株であり、特徴として暗所において本来明所で起こるはずの芽生えの生長過程が起こる⁽¹⁾。すなわち、展開した子葉と短い胚軸、分化した表皮系細胞、色素体(葉緑体の前駆体)の分化、光合成に関わる光誘導性遺伝子の発現が観察された。

1991年に当時、USDA, University of California, Berkeley校のPeter Quail研究室のポストドクであったXing-Wang Dengは、*det1*と同様の表現形質を持つ*cop1* (*constitutive of photomorphogenesis 1*) 変異株を単離して報告した⁽²⁾。また、Oklahoma State UniversityのDavid Meinkeは、種子と胚軸にアントシアンが蓄積する*fusca*変異株の中から*det1/cop1*変異株と同様の暗所での光形態形成変異株*fus6*を報告している⁽³⁾。現在*det1/cop1*と同様の形態を示す変異株は、10の異なった遺伝子座がある事が報告されており⁽⁴⁾、これらが、この範疇に属する形態形成変異株のほぼすべてであると考えられている。これらの変異株のうち、

† Gene Regulation as by COP 1 and COP 9 Complex
Minami MATSUI (Frontier Research Program, The
Institute of Physical and Chemical Research
(RIKEN))

表 1 シロイヌナズナの光形態形成関連遺伝子

遺 伝 子	暗 所 で の 形 態				文 献
	胚軸	葉緑体	子葉	光誘導性遺伝子	
COP 1 (FUS 1, EMB 168)	短	部分分化	展開	発現	(2)
COP 8 (FUS 8, EMB 134)	短	部分分化	展開	発現	(21)
COP 9 (FUS 7, EMB 143)	短	部分分化	展開	発現	(7)
COP 10 (FUS 9, EMB 144)	短	部分分化	展開	発現	(21)
COP 11 (FUS 6, EMB 134)	短	部分分化	展開	発現	(21)
COP 12 (FUS 12)	短	部分分化	展開	発現	(4)
COP 13 (FUS 11)	短	部分分化	展開	発現	(4)
COP 14 (FUS 4)	短	部分分化	展開	発現	(4)
COP 15 (FUS 5)	短	部分分化	展開	発現	(4)
DET 1 (FUS 2)	短	部分分化	展開	発現	(1)
COP 2 (AMP 1, PT 1)	長	未分化	展開	なし	(22)
COP 3 (HLS 1)	長	未分化	展開	なし	(22)
COP 4	長	未分化	展開	やや発現	(22)
DET 2 (COP 7)	短	未分化	展開	やや発現	(23)
DET 3	短	未分化	展開	なし	(24)
PRC 1	短	未分化	未展開	—	(25)
DIM	短	未分化	展開	なし	(26)
CPD	短	未分化	展開	発現	(27)

DET1, COP1, COP9, FUS6 の4つの遺伝子が単離されている^(5,6,7,3)。これらのタンパク質は、その変異によって暗所においても光形態形成が進むことから、明所で起こる形態形成過程が暗所では進まないように制御している抑制因子であると考えられている。DET1, COP9 タンパク質は常に核内に局在することが報告されているが^(5,7)、COP1 タンパク質は光条件によって核と細胞質を移行することが報告されている⁽⁸⁾。すなわち明所では、COP1 タンパク質は、細胞質に存在しているがこの植物体を暗所に持っていくと COP1 タンパク質は、核内に移行して抑制因子としての機能を発現すると考えられる。またこの植物を再び明所に持てくると COP1 タンパク質は細胞質に移行して抑制効果がなくなるものと考えられている。

3. 光形態形成タンパク質複合体

COP1 タンパク質は、分子量 74 kDa のタンパク質であり、3つの特徴ある構造を持っている。N-末端から Ring finger 領域、coiled-coil 領域、Gβ (WD-40) 領域である⁽⁶⁾。

Ring finger は、Zinc-finger のサブファミリーにあたるモチーフである。このモチーフは、哺乳動物の免疫系細胞で免疫グロブリン遺伝子の V-D-J 領域の組み換えを活性化するタンパク質の RAG1⁽⁹⁾ や酵母の紫外線

による染色体の損傷からの修復に関与しているタンパク質の RAD18⁽¹⁰⁾ などが含まれる。これらのタンパク質は他の Zinc-finger タンパク質と異なり実際 DNA に結合するという報告はほとんどない。実際ランダムな合成 DNA の中から結合部位を決定する実験で COP1 タンパク質と DNA の有意な相互作用はみられない。coiled-coil 領域と Gβ 領域は、ほかのタンパク質とのタンパク質相互作用部位と考えられる。我々は、この領域を用いた *in vitro* による相互作用タンパク質の検索からいくつかの遺伝子を得ている。この中には、細胞質中において組織別に存在様式を変えるタンパク質 CIP1 (COP1 interacting Protein 1)⁽¹¹⁾ や転写制御因子と類似性があるタンパク質があり、現在その発現様式や細胞内局在について解析を行なっている。

COP9 タンパク質は常に核内にあって、光条件で異なる大きさのタンパク質複合体を形成することがわかっている⁽¹²⁾。暗所では、720 KDa くらいの複合体 (Dark complex) を形成しているが、明所では安定な 560 KDa (Light complex) の大きさに変化することから、明所と暗所で異なったサブユニットを持った複合体があることが示唆される。この複合体の構成成分を解析する目的で Light complex を大量にカリフラワーを材料として精製した。この複合体の構成成分を電気泳動によ

って分離した後、タンパク質のマイクロシーケンスによって部分アミノ酸配列の決定を行なった⁽¹²⁾。その結果 p 22 (分子量 22 kDa のタンパク質) は、カリフラワーの COP 9 タンパク質であることを確認した。さらに p 50, p 52 (分子量 50 kDa と 52 kDa) の 2 つのタンパク質が COP11 (FUS6) タンパク質であることがわかった。以上のことからこの複合体は、実際に、光形態形成に関係している複合体であることが示唆された。このことはまた、光形態形成に関わっているタンパク質がそれぞれ独立の光シグナル伝達経路を制御するのではなく、少なくとも幾つかは複合体として共通のシグナル伝達経路を制御していることを示している。また免疫ブロットの結果、この Light complex 中には、COP1 タンパク質は含まれていないことがわかった。先に述べたように COP1 タンパク質が光条件によって細胞質と核内を交互に移行することを考えると Dark complex 中に COP1 タンパク質が含まれている可能性があるものと思われる。それでは、この COP9Light complex の役割は何なのであろうか。COP9 タンパク質と FUS6 タンパク質は、哺乳類に類似のタンパク質が存在することが示唆されている⁽¹³⁾。特に FUS6 タンパク質は、三量体 G タンパク質の α サブユニットの欠損した酵母細胞を機能回復させるヒトの cDNA と相関性があり、G タンパク質からのシグナル伝達経路に関与していることが示唆されている⁽¹⁴⁾。このようなことを考えると COP9 Light complex は、動植物共通の恐らくは動物においても形態形成を制御する因子と考えることができる。特に植物においては FUS6 タンパク質が COP9 の複合体の構成成分として存在することと、この遺伝子の発現が光条件によって制御されていることから、もし明条件にのみ、複合体に存在して、光レセプターからの情

報の授受に関係していると考えると非常に興味深い分子であるといえる。一方、植物で明暗両条件での形態形成を制御する中心となる分子は Dark complex において Light complex に付加される因子であるといえる。そしてそのような因子が光による植物の形態形成、すなわち植物らしさを支配している分子ではないかと考えられる。

4. 光シグナル伝達経路 (図 1)

COP1, COP9 複合体に受け取られた光シグナルはどのようにして、種々の生理的な反応を起こすのであろうか。これらの複合体が DNA に結合するという証拠はまだ得られていない。現在これらの遺伝子の下流に、仮想的に 3 つのシグナル伝達経路が考えられている。1 つは、葉緑体の分化であり、2 つめは、光誘導性遺伝子の制御であり、3 つめは、子葉の展開や、胚軸の伸長阻害である。これらの経路は互いに作用しあっていると考えられるが、例えば、*doc* (dark overexpression of *cab*) 変異株は、光誘導性遺伝子の *CAB* が本来発現が抑制されている暗所で発現しているが、形態や、葉緑体の分化などは起こっておらず、シグナル経路の一部分の変異と考えられる⁽¹⁵⁾。これとは逆に明所で本来発現すべき、*CAB* 遺伝子を含めた光誘導性遺伝子の発現が抑制された *cue* (*cab* under expressed) 変異株も単離されている⁽¹⁶⁾。これらの変異株は、光誘導性遺伝子発現と子葉や胚軸の制御、葉緑体の分化が分離したシグナル経路特有の変異株であるといえる。

ホメオボックス遺伝子は動物において種々の形態形成に関わっていると考えられているが、植物には、植物固有のホメオボックス遺伝子があり、HD-Zip タンパク質と呼ばれる、ホメオドメインとロイシンジッパー構造をとにもつ一群のタンパク質が存在する⁽¹⁷⁾。こ

図 1 外界の光はその波長によって少なくとも 3 種類の光レセプターによって受け取られ核内の光形態形成関連分子に伝えられる。その後、未知の経路によって種々の遺伝子発現を引き起こして生理反応となって現れる。

COP 1 タンパク質は細胞質と核内を光条件によって移行する。

カッコ内の核タンパク質は必ずしも複合体の成分を示しているわけではない。

これらの遺伝子はホルモンのシグナル伝達、トライコームの形成など植物の様々な形態形成の過程で関与していることが報告されている。このうちの *Athb-2* 遺伝子と *Athb-4* 遺伝子はフィトクロム A 遺伝子 (*PHYA*) と同様に近赤外光によって発現が誘導され、赤色光によって発現が減少することが知られている⁽¹⁸⁾。また、暗所で育てた芽生えでは発現が見られるが、明所で育てた芽生えでは発現が見られない。*Athb-2* 遺伝子をセンス、アンチセンス方向に過剰発現するとセンス方向に発現したときに胚軸伸長が明所で促進され、またアンチセンスを発現した場合には、暗所で子葉の展開と胚軸伸長の抑制が起こることが報告されている⁽¹⁹⁾。しかし、色素体の分化は観察されない。このようなことからこの遺伝子は光による胚軸の伸長を制御して光形態形成に関与していると考えられるがこれを証明する積極的な結果は得られていない。*ATH1* 遺伝子は、*Athb* とは異なる範疇のホメオボックス遺伝子であるが、この遺伝子も光によって発現が制御されている事が報告されている⁽²⁰⁾。この遺伝子は *Athb-2* などとは逆に明所で発現量が多く、暗所で少ない。またこの遺伝子は *cop1* 変異株において、明暗の両条件で発現が観察され、いくつかの *cop1* 変異アレルの変異の程度が強くなるにつれて暗所での *ATH1* の発現量も増加することから *COP1* 遺伝子の下流に存在するものと考えられている。

5. おわりに

光形態形成について、特に核内でどのようなタンパク質が働いているかについて現在の状況をまとめた。光形態形成については、古くからさまざまな植物を実験材料として用いて研究がなされてきた。分子生物学的に解析が進んだのは、種々の遺伝子単離の手法が確立されて、フィトクロムや光形態形成に関する遺伝子が単離され始めたことによる。

COP9 タンパク質複合体は、光形態形成を制御するマスターキーであると考えられ、この解析によって光形態形成に関与する多くのタンパク質の情報が得られると思われる。さらにこのタンパク質複合体が制御する遺伝子群が明らかにされることによって少なくとも核内における植物の光形態形成の過程を分子的に記述する手がかりが得られるものと思われる。

また、先に述べたように、近年のヒトや *Caenorhabditis elegans* のゲノム配列の解析から、これらの生物において *COP9* や *FUS6* と非常に相溶性の高い遺伝子

が存在することがわかってきた⁽¹³⁾。特にヒトにおいては、*COP9*、*FUS6* タンパク質ともにそれぞれ、67 と 65% という高い相溶性がある遺伝子が存在することから、これらのタンパク質は、植物における形態形成に関与しているだけでなく、一般的に動物においても、重要な分子であることが示唆される。植物の研究から他の生物におけるこれらのタンパク質の機能に関して示唆的な結果が得られると思われる。また、核内の光合成系光誘導性遺伝子との協調による葉緑体の分化過程の制御において、これらの光形態形成複合体の関与が明らかであるが、この複合体の構成成分の解析から分化を制御する因子に関する情報が得られるものと思われる。

総説

Light signaling in plants.

D. A. Chamovitz and X.-W. Deng

Critical review in plant science 15, p 455-478 (1996)

The role of the *COP/DET/FUS* genes in light control of Arabidopsis seedling development.

N. Wei and X.-W. Deng

Plant Physiol., 112, p 871-878 (1996)

- (1) J. Chory *et al.* : *Cell*, **58**, 991-999 (1989).
- (2) X.-W. Deng *et al.* : *Genes and Dev.*, **5**, 1172-1182 (1991).
- (3) L. A. Castle and D. W. Meinke : *Plant Cell*, **6**, 25-41 (1994).
- (4) S. F. Kwak *et al.* : *Plant Physiol.*, **110**, 731-742 (1996).
- (5) A. Pepper *et al.* : *Cell*, **78**, 109-116 (1994).
- (6) X.-W. Deng *et al.* : *Cell*, **71**, 791-801 (1992).
- (7) N. Wei, *et al.* : *Cell.*, 117-124 (1994).
- (8) A. G.von Arnim and X.-W. Deng : *Cell*, **79**, 1035-1045 (1994).
- (9) M. J. Sadofsky *et al.* : *Genes and Dev.*, **9**, 2193-2199 (1995).
- (10) J. S. Johnes *et al.* : *Nucl. Acids Res.*, **16**, 7119-7131 (1988).
- (11) M. Matsui *et al.* : *Proc. Natl. Aca. Sci. USA*, **92**, 4239-4243 (1995).
- (12) D. A. Chamovitz *et al.* : *Cell*, 115-121 (1996).
- (13) D. A. Chamovitz and X.-W. Deng : *Cell*, **82**, 353-354 (1995).
- (14) B. H. Spain *et al.* : *Mol. Cell. Biol.*, 6698-6706 (1996).
- (15) H.-m. Li *et al.* : *Gene and Dev.*, **8**, 339-349 (1994).
- (16) H.-m. Li *et al.* : *Plant Cell*, **7**, 1599-1610 (1995).
- (17) M. Schena and R. W. Davis : *Proc. Natl. Acad.*

- Sci. USA*, **89**, 3394-3398 (1992).
- (18) M. Carabelli *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 3530-3535 (1996).
- (19) M. Schena *et al.* : *Genes and Dev.*, **7**, 367-379 (1993).
- (20) N. Quaedvlieg *et al.* : *Plant Cell*, **7**, 117-129 (1995).
- (21) N. Wei *et al.* : *Plant Cell*, **6**, 629-643 (1994).
- (22) Y. Hou *et al.* : *Plant Cell*, **5**, 329-339 (1993).
- (23) J. Chory *et al.* : *Plant Cell*, **3**, 445-459 (1991).
- (24) H. L. C. Poch, *et al.* *Plant J.*, **4**, 671-682 (1993).
- (25) T. Desnos *et al.* : *Development*, **122**, 683-693 (1996).
- (26) T. Takahashi *et al.* : *Genes and Dev.*, **9**, 97-107 (1995).
- (27) M. Szekeres *et al.* : *Cell*, **85**, 171-182 (1996).
-