真正細菌における主要シグマ因子の多型性に関する研究

(2002 年度農芸化学奨励賞受賞)

田 中 寛

(東京大学分子細胞生物学研究所)

Key words: sigma factor; RNA polymerase; transcription; chloroplast; stress response

はじめに

すべての生物は細胞から成り立ち、DNA→RNA→タンパク質で表現されるセントラルドグマの情報の流れは、細胞の機能発現の根幹である。特に DNA を鋳型に RNA を合成する転写段階の制御により、細胞はその状態の大枠を決めていると考えられている。本研究では、真正細菌の転写装置 RNA ポリメラーゼを主に扱い、基本的な転写調節について考えてきた。本稿ではまず、真正細菌の転写調節における転写因子およびシグマ因子の研究の流れを示し、本研究の意義について述べる。さらに、共生した真正細菌の RNA ポリメラーゼが生き続けている、植物葉緑体の転写装置についても紹介したい。

転写調節研究の流れ

真正細菌のゲノムには数千の遺伝子がコードされ、これらのスイッチが必要に応じてオンオフされる。単一種の RNA ポリメラーゼに対し、数千の遺伝子が個別に制御されるためには、多様な転写調節の仕組みが必要と考えられた。このような仕組みの一端を初めて明らかにしたのが、Jacob と Monod によるオペロン説である¹⁾。このモデルでは、プロモーターからの転写は常にオンであり、負の調節因子であるレプレッサーがオペレーター領域に結合することで、ラクトースオペロンの転写をうまく説明することができた。しかし、プロモーターからの転写が常にオンであるとは考えにくい。例えば大腸菌では、4000 以上の遺伝子に対して RNA ポリメラーゼは 2000 分子以下しか存在

しない²⁾。したがって、RNA ポリメラーゼはすべての遺伝子には行き渡らず、遺伝子間での RNA ポリメラーゼの取り合いが起きているはずである。つまり、少ない数の RNA ポリメラーゼを積極的にプロモーター領域に呼び込むためには、正の調節が重要と考えられる。例えば、ラクトースオペロンでは、cAMP と結合した CRP タンパク質がプロモーター上流に結合することで、プロモーターへの RNA ポリメラーゼの結合が促進される³⁾。この CRP のようなタンパク質を転写因子と呼ぶが、現在大腸菌では、このような転写調節因子が 100 種以上も知られており、さまざまなシグナルによる転写制御に関与することが明らかにされている。

大腸菌に代表される真正細菌の RNA ポリメラーゼは、4 種のサブユニット ($\alpha, \beta, \beta', \sigma$) からなる 5 量体 ($\alpha_2, \beta, \beta', \sigma$) の単純な酵素である。これらサブユニットはそれぞれ、*rpoA*, *rpoB*, *rpoC*, *rpoD* 遺伝子にコードされる。 $\alpha_2\beta\beta'$ の 4 量体は強固に結合しており、これだけで RNA を合成することから、コア酵素 (E) と呼ばれる。シグマ (σ) サブユニットは、プロモーター領域の認識や転写開始反応のみに必要であり、転写が開始された後は転写複合体から離脱すると考えられている。

当初は一定の性質をもつと考えられた RNA ポリメラーゼについても、特異性を変化させる仕組みがしだいに明らかにされた。バクテリオファージは細菌に感染するウィルスであり、自身の DNA のみを細菌細胞内に注入し、自己複製を行う。DNA のみが細胞内に入るので、感染当初のファージ遺伝子 (初期遺伝子) の転写は、細菌の RNA ポリメラーゼにより行われる。しかし DNA 複製の進行に伴い、バクテリオファージは宿主 RNA ポリメラーゼの特異性を変化させ、後期遺伝子の発現を誘導する。この際に、ファージ遺伝子由来のシグマ因子により、宿主のシグマ因子が置き換えられることが、大腸菌の T4 ファージ⁴⁾ や枯草菌の SPO1 ファージ⁵⁾ で見いだされた。これは、シグマ

Studies on heterogeneity of principal sigma factors in eubacteria

Kan TANAKA (Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo)

因子の置換により、RNA ポリメラーゼの特異性が多様化する可能性を示すものであった (図 1A)。

枯草菌はグラム陽性の桿菌であるが、栄養源の枯渇に伴い胞子を形成する。この過程において、一連の遺伝子群が決まった順番で、形態的な分化の進行に合わせて発現することが観察されていた。Losick と Pero は、このような逐次的な遺伝子発現が、一連のシグマ因子の消長により生じていると考え、シグマカスケード説を提唱するに至る⁹⁾。これはその後、胞子形成に必須な遺伝子の中から、構造的にもシグマ因子と類似したものが発見されるに及び⁷⁾、その実体の解明に進んでいった。一方大腸菌でも同時期に、熱ショック応答の制御因子がクローン化され、その構造がシグマ因子に類似していることが判明した⁸⁾。こういった因子は、その後実際に置換型のシグマ因子として機能することが示される。これら置換型シグマ因子に対して、旧来知られてきたシグマ因子 (*rpoD* 遺伝子産物) は、主要シグマ因子として区別して呼ばれることが多い。主要シグマ因子は生育に必須であり、細胞中に最も多量にあるシグマ因子である。現在ではほとんどの真正細菌が、主要シグマ因子以外に複数の置換型シグマ因子をもつことが知られている。こういったシグマ因子は、それぞれ対応する生理状況に応じて機能発現し、特異的なプロモーター構造を認識することで一群の遺伝子のスイッチをオンにすると考えられており、これが基本的なシグマ因子多型性の考え方である。

主要シグマ因子の多型性

初期の分子遺伝学は、大腸菌や枯草菌、そしてそれらのバクテリオファージを中心として発展した。そして、筆者が研究を開始した 1986 年当時、すでに大腸菌・枯草菌の主要シグマ因子の全構造が解明されていた^{9), 10)}。当時の筆者の研究対象は放線菌である。放線菌はグラム陽性の真正細菌であるが、形態的にはカビに類似し、基底菌糸、気中菌糸、胞子に細胞分化する。さらに多様な抗生物質の生産能をもつなど、他の真正細菌に見られない複雑さを示す。こういった性質がシグマ因子の多型性に関連しているに違いない。そのような視点から Westpheling ら¹¹⁾ や Buttner ら¹²⁾ は、生化学的手法により放線菌 (*Streptomyces coelicolor* A3(2)) におけるシグマ因子の多型性を示すことに成功していた。

これらとは独立に筆者らは、主要シグマ因子の同定がシグマ多型性研究の第一歩と考え、放線菌 (*S. coelicolor* A3(2)) の主要シグマ因子遺伝子をクローン化することにした。大腸菌と枯草菌は、それぞれグラム陰性とグラム陽性の細菌であり、分類学的に遠く隔たっている。放線菌は高 GC 含量のグラム陽性細菌とされ、大腸菌よりは枯草菌に近縁である。そこで、大腸菌と枯草菌の主要シグマ因子の極めて高い相同性から、放線菌についても同様のタンパク質が保存されていることを予想した。大腸菌と枯草菌で完全に保存されているアミノ酸配列からオリゴヌクレオチドをデザインし、これを用いたハイブリダイゼーションによ

図 1 RNA ポリメラーゼシグマ因子の多型性による二つの制御パターン
 A) バクテリアファージの増殖に伴うシグマ因子の置換と転写特異性の変化
 B) 主要シグマ因子の多型性によるコンセンサス型プロモーターの制御

り、実際に放線菌の主要シグマ因子と考えられる遺伝子の同定に成功した¹³⁾。当初のサザンハイブリダイゼーションの結果から、対応する染色体領域が4種同定されていたため、これらすべてについてクローン化し構造を決定した。その結果、4種すべての領域が主要シグマ因子様の遺伝子をコードすることが判明し、これら遺伝子を *rpoD* 相同遺伝子、*hrdA*~*D* (homolog of *rpoD* A~D) と命名した。これら *rpoD* 相同遺伝子の配列を比較してみると、プローブとして用いた配列が完全に保存されていた。また、この領域が他の置換型シグマ因子には保存されていなかったことから、この配列を *rpoD*-box と命名した¹³⁾。

rpoD 相同遺伝子の多型性が放線菌特異的かどうかを調べるため、さまざまな分類群の真正細菌から DNA を調製し、*rpoD*-box 配列を用いたスクリーニングを行った。その結果、ほとんどの例で複数の *rpoD* 相同遺伝子が検出され、むしろ単一シグナルを示すのは、低 GC 含量グラム陽性グループの枯草菌などのみであった。また、放線菌やシアノバクテリアにおいて、特に多数 (4~6 種) が検出されたことは特筆された。したがって、*rpoD* 相同遺伝子の多型性は真正細菌に普遍的に観察されることが明らかになった^{13), 14)}。

主要型シグマ因子の機能

rpoD 相同遺伝子の多型性の意味を知るために、数種の真正細菌を用いて遺伝子破壊実験を進めた。その結果、複数の相同遺伝子の中でも、必ず1種類のみが生育に必須であった。これら必須の遺伝子の産物は、アミノ酸配列を用いた系統解析でも大腸菌・枯草菌の主要シグマ因子と強いクラスターを作り、従来知られてきた主要シグマ因子に対応すると考えられた。そして、遺伝子破壊の可能なものについては、これらを主要型シグマ因子として位置づけることにした。その後、Lonetto ら¹⁵⁾ はデータベース上の配列を用いた系統解析を進め、各菌株に唯一存在する主要シグマ因子をグループ1シグマ因子、生育に必須ではないが、グループ1シグマ因子と相溶性の高いシグマ因子をグループ2シグマ因子、その他の置換型シグマ因子をグループ3シグマ因子として分類した*。筆者らが見いだした主要型シグマ因子は、グループ2シグマ因子に対応することになる。放線菌を用いた解析では、3種のグループ2シグマ因子を同時に欠く菌株も構築されたが、それでも特定の表現型の特定には至らなかった¹⁶⁾。結局、グループ2シグマ因子の機能の解明は、大腸菌での解析を待つことになった。

大腸菌にはグループ2シグマ因子がただ1種類存在する。このシグマ因子遺伝子については1989年、Mulvey らが増殖定常期に強く発現するカタラーゼ (HPII) の調節因子として初めて記載した¹⁷⁾。その後、増殖定常期に発現する多くの機能が同じ遺伝子の制御下にあることが判明し¹⁸⁾、定常期 (Stationary phase) に機能するシグマ因子という意味で *rpoS* と命名された¹⁸⁾。 *rpoS* は DNA の修復や活性酸素の消去といった、非増殖期における生体防御にかかわる遺伝子群を一括して制御しており、さまざまなストレスに対する耐性を一挙に高める一般ストレス応答 (general stress response) に関係すると考えられている¹⁹⁾。実際、*rpoS* は増殖定常期だけでなく、高浸透圧、低温、酸などのさまざまなストレスで誘導を受け、細胞の生存率を高めることが確かめられている。

rpoS 遺伝子産物 (σ^S または σ^{38}) がシグマ因子であることから、特異的なプロモーター配列の検討が行われたが、はっきりした結論は得られていなかった。筆者らは *in vitro* 転写系を用いた解析が、 σ^S の特異性について最も明確な回答を与えると考え、精製コア酵素と σ^S を用いた再構成転写系を構築した。その結果 σ^S のプロモーター認識特異性が、主要シグマ因子 (σ^{70}) の特異性と極めて類似していることを明らかにした。すなわち、多くのプロモーターは2種の *rpoD* 相同遺伝子産物を含む RNA ポリメラーゼ ($E\sigma^{70}$ と $E\sigma^S$) により共通に認識されたが、少数のプロモーターについてはどちらかのホロ酵素にのみ認識された。 σ^S が増殖定常期に合成されるシグマ因子であることから、2種のシグマ因子が増殖相により量比を変え、細胞全体としての転写バランスを調節しているという「シグマ因子の平衡モデル」を提唱した²⁰⁾ (図2)。

しかし、特異性のほとんど同じ二つのシグマ因子が、明確な役割分担もなく細胞内に共存しているのは不自然である。このような視点から国立遺伝研の Ishihama らは、2種のシグマ因子を含む RNA ポリメラーゼについて、至適反応条件を検討した。その結果、 $E\sigma^S$ は $E\sigma^{70}$ よりも高塩条件で、より強い転写活性を示すことが示された²¹⁾。増殖定常期や高浸透圧環境下では、細胞内は高塩状態となることが知られている。したがって、 σ^S はこのような環境によく適応したシグマ因子であると考えられることができる。筆者らは、このような特性が σ^S の何らかの構造的特徴に依存している可能性を考え、 σ^S の C 末端の 16 アミノ酸配列がさまざまな菌株の σ^S で保存されていることに注目した。この領域を欠く σ^S を構築したところ、 σ^S の活性は溶液中の塩に高い感受性を示すようになり、この領域が酵素活性の塩耐性 (塩依存性) に関与していることが強く示唆された²²⁾。

* この中には独自に進化してきたシグマ N 型のシグマ因子は含まれない。

図2 大腸菌におけるコンセンサス型プロモーターの制御

以上のように、大腸菌の2種の *rpoD* 相同遺伝子産物は、よく似た特異性をもちつつも、生理条件の変化に応じて使い分けられ、互いに機能を補っているようである。 σ_{70} の認識するプロモーターについては過去に詳細な解析がなされ、-35領域 (TTGACA)-(N₁₇₋₁₉)-10領域 (TATAAT)のコンセンサス配列が示されてきた。このようなプロモーターは広くコンセンサス型プロモーターと呼ばれるが、その認識にかかわる基本転写装置が、大腸菌では2種存在すると考えられるわけである。これまでシグマ因子の多型性を考える場合、異なるタイプのプロモーターに対するスイッチとしての機能が考えられてきた。しかし、本研究で明らかにしてきたように、同じコンセンサス型のプロモーターを認識するために、一連のシグマ因子群が用意される場合が多い(図1B)。これは従来の概念とは明確に異なり、主要シグマ因子の多型性と考えべきものである。

シアノバクテリアの *rpoD* 相同遺伝子

シアノバクテリアは、酸素発生型の光合成を行う真正細菌である。このグループの真正細菌についても、4~6種の *rpoD* 相同遺伝子の存在が確認された¹⁴⁾。そこで筆者らは *Synechococcus* PCC 7942株を材料として、4種の *rpoD* 相同遺伝子の解析を行った。しかし、この際にもグループ2シグマ因子の欠損による明かな表現型を得ることはできなかった。他の菌株でも、Brahamshaら²³⁾やKhudyakovら²⁴⁾が *Anabaena* PCC 7120で、Caslake, Gruberらが *Synechococcus* PCC 7002でグループ2シグマ因子の解析を行ったが^{25), 26)}、これらの研究も欠損による顕著な表現型の同定には至っていない。ただし、それぞれのグループ2シグマ因子は、炭素・窒素・硫黄などの特異的な栄養源の枯渇により誘導されることが示唆された。また、PCC 7002株の *sigE*が、増殖定常期に誘導される核様体タンパク質遺伝子(*dpsA*)の転写に必要なことも明らかにされた²⁶⁾。

1996年に、かずさDNA研究所で *Synechocystis* PCC

6803の全ゲノム配列が決定されたのを皮切りに²⁷⁾、現在では数種のシアノバクテリアのゲノム配列が利用可能となっている。シグマ因子について比較検討を行ったところ、どの菌株も唯一の主要シグマ因子をもつほかに、大きく分けて4タイプのグループ2シグマ因子をもつことが明らかになった²⁸⁾。したがって、これら4タイプのシグマ因子は、調べたシアノバクテリアの共通祖先から受け継がれてきたはずであり、少なくとも数億年の間保存されてきたといえる。筆者らは、ゲノム配列や網羅的DNAアレイの利用可能な *Synechocystis* PCC 6803株をモデル系として、各シグマ因子の標的遺伝子の同定、生理的機能の解明を目指して解析を進めている。ここでは詳しく述べないが、*sigD*遺伝子がさまざまなストレスにより誘導されることや、*sigE*が窒素欠乏に応答して発現することなどが明らかになってきた。いずれにせよ、標的遺伝子群の特定が、より明確な機能の特定につながると考えられる。

シアノバクテリアに見られるグループ2シグマ因子群についても、大腸菌のように複数の基本転写装置を構成しているのだろうか。このことを調べる目的で、筆者らは *Synechococcus* PCC 7942株の3種の *rpoD* 相同シグマ因子について、再構成 *in vitro* 転写系を構築した²⁸⁾。これら酵素がすべてコンセンサス型プロモーターを認識したことから、実際にシアノバクテリアでも特異性の重複が確認された。したがって、さまざまな真正細菌に見られるグループ2シグマ因子についても、一般に基本転写装置の多型性を示すことが強く示唆された。

葉緑体の進化と転写装置

植物細胞のオルガネラである葉緑体は、太古のシアノバクテリアの細胞内共生により生じたと考えられている。1986年にOhyamaら²⁹⁾とShinozakiら³⁰⁾は、それぞれゼニゴケとタバコ葉緑体DNAの全構造を決定した。その結果、葉緑体遺伝子の構造が真正細菌に近いこと、真正細菌型のRNAポリメラーゼ遺伝子が葉緑体DNAにコードされていることなどが明らかになった。葉緑体DNAには

コア RNA ポリメラーゼのサブユニットのみがコードされており、シグマ因子遺伝子は見いだされない。しかし、葉緑体プロモーターの構造については多くの研究がなされ³¹⁾、真正細菌のコンセンサス型プロモーターが機能することから、シグマ因子が存在しないとは考えにくかった。筆者らは、葉緑体で機能するシグマ因子群が核ゲノムにコードされているはずであると考え、さまざまな植物について相同性による遺伝子検索を行った。当初は高等植物を対象としたが、シグマ因子遺伝子の同定には至らなかったことから、より原始的な葉緑体をもつと考えられる藻類を対象を広げてスクリーニングを行った。その結果、単細胞紅藻 *Cyanidium caldarium* RK-1 の核ゲノムから、真正細菌型の *rpoD* 相同遺伝子を同定することに成功した³²⁾。さらに、遺伝子産物に特異的な抗体を用いた免疫電子顕微鏡法により、対応するシグマ因子が葉緑体に局在することも示した。したがって、葉緑体シグマ因子が核にコードされるという図式について、ここで初めて実証することに成功した。また筆者らとは独立に、Liu らも別の単細胞紅藻 *Galdieria sulphuraria* からシグマ因子遺伝子の同定にはほぼ同時期に成功している³³⁾。

Cyanidium caldarium RK-1 と近縁の単細胞紅藻、*Cyanidioschyzon merolae* 株については、最近筆者を含む研究グループにより核ゲノム配列が決定されつつある。それによれば、*C. merolae* の核ゲノムには少なくとも 4 種の葉緑体シグマ因子がコードされる。それらの構造が、いずれも真正細菌の *rpoD* 相同遺伝子の範疇に属することから、それぞれがコンセンサス型プロモーターの認識にかかわる基本転写装置を構成することが予想される。*C. caldarium* を用いた解析では、シグマ因子間で光条件による発現の違いが観察された³⁴⁾。これは真正細菌と同様に、環境に応じた基本転写装置の使い分けを意味しているのであろう。核にコードされるシグマ因子以外に、紅藻では一般に葉緑体ゲノム上に 4 種の転写因子がコードされている³⁵⁾。これらはそれぞれ特定の環境変化に応じて遺伝子発現を調節していると考えられるが、複数の基本転写装置との組み合わせで、紅藻の葉緑体はきめ細かな転写調節を行っていると考えられる。

高等植物葉緑体の転写装置

高等植物の葉緑体転写装置については、早くから RNA ポリメラーゼの精製が進められ、真正細菌型の酵素が特定されてきた。しかし、シグマ因子の精製は極めて困難であり、シグマ様因子として数種のタンパク質が示唆されてきたのみであった。1996 年頃から、*Arabidopsis* において EST-database が充実し、3 種の cDNA 配列がシグマ因子

の候補として得られた。これらについて筆者ら^{36), 37)}、および Kobayashi らのグループ³⁸⁾ による遺伝子単離が進み、独立に解析結果の論文が発表された。その後の核ゲノム解析の進展に伴い、さらに 3 種のシグマ因子遺伝子が見いだされたことから、*Arabidopsis* では 6 種の葉緑体シグマ因子遺伝子 (*SIG1*~*SIG6*) が核にコードされていることが判明した³⁹⁾。これらシグマ因子の構造から考えて、*Arabidopsis* でも 6 種のシグマ因子は特異性の類似した葉緑体基本転写装置を構成すると考えることができる。さらに、タバコ⁴⁰⁾ やイネ⁴¹⁾、トウモロコシ^{42), 43)} についてもシグマ因子遺伝子の単離がなされている。

高等植物の葉緑体では、真正細菌型の RNA ポリメラーゼのほかに、全く異なるプロモーター構造を認識する転写活性が見いだされていた⁴⁴⁾。1996 年に Allison らは、葉緑体 DNA の操作技術を用い、葉緑体 DNA 上の RNA ポリメラーゼ遺伝子 (*rpoB*) の破壊に成功した⁴⁵⁾。この変異体では、光合成能をもつ葉緑体は全く形成されなかったが、葉緑体 DNA からの転写は依然として生じていることが明らかにされた。したがって、真正細菌型の RNA ポリメラーゼのほかに、何らかの転写装置の存在が強く示唆された。1997 年になって Hedtke らは⁴⁶⁾、*Arabidopsis* ゲノムではミトコンドリア型の RNA ポリメラーゼ遺伝子が倍加しており、このうち一方が葉緑体に輸送されていることを報告した。この RNA ポリメラーゼは、大腸菌の T7 バクテリオファージの RNA ポリメラーゼと類似しており、単一のサブユニットからなる。その後、この RNA ポリメラーゼが核にコードされていることから NEP (Nuclear Encoded RNA Polymerase)、葉緑体ゲノムにコードされている真正細菌型の酵素は PEP (Plastid-Encoded RNA Polymerase) と命名された。したがって、高等植物の葉緑体では 2 種の RNA ポリメラーゼ (NEP と PEP) と、PEP の活性化にかかわる数種のシグマ因子により転写制御がなされると考えることができる。葉緑体は、茎頂分裂組織の細胞に見られるプロプラスチドから、葉の形成に伴って分化して生ずる。プロプラスチドにおける転写は NEP により行われているが、葉緑体への分化シグナルにより PEP が活性化される。PEP は光合成遺伝子の転写に必須であり、シグマ因子による調節を受けながら、葉緑体の構築にかかわる。以上が、現在想定されている葉緑体分化における転写カスケードの流れである (図 3)。高等植物の場合、紅藻で見られる転写因子群は葉緑体ゲノムから消失しており、核による転写支配がさらに強まっていると考えられるであろう。

筆者らのグループでは現在、PEP の特異性を決めるシグマ因子群が、どのように葉緑体の分化に関与するかを調べ

図3 シロイヌナズナの葉緑体形成における2種のRNAポリメラーゼ、6種のシグマ因子による転写カスケード

ている。最近、SIG2 遺伝子への T-DNA 挿入変異株が得られ⁴⁷⁾、この欠損が葉緑体の分化異常を示すことを見いだした。変異株において、どの葉緑体遺伝子の発現が影響を受けているかを網羅的に調べたところ、一群の tRNA の転写の顕著な低下が観察された⁴⁸⁾。したがって、SIG2 は葉緑体の tRNA 量を調節することで、葉緑体分化時における翻訳制御にかかわっているらしい (図3)。さらに、SIG2 の支配下にある glutamyl-tRNA は、テトラピロール合成の初発反応に必要な補因子であり、クロロフィル合成にも必須である⁴⁹⁾。実際、SIG2 を欠損する変異株ではクロロフィル含量の低下が観察されることから、SIG2 は光合成タンパク質とクロロフィルの合成量を、tRNA の転写により共役させている可能性が示唆された。SIG2 以外のシグマ因子の特異的な機能については、現在までのところ不明な点が多い。筆者らはすべてのシグマ因子について、T-DNA 挿入株の検索や RNAi 株の構築などを進めており、順次標的遺伝子や機能の特定を進めようとしている。最近 SIG5 については、青色光⁵⁰⁾ による誘導が見いだされており、この遺伝子の機能については、近い将来に明らかにすることができると考えている。

おわりに

グループ2シグマ因子の特徴は、腸内細菌や放線菌、シアノバクテリアといった分類群に特異的なパターンで存在すること。そして、従来の実験室での培養環境では、その欠損による影響があまり見られないことであろう。これは一見、普遍性を追求してきた分子生物学の立場からは、つまらない性質のように思える。しかしそれでも、グループ2シグマ因子群の機能は自然界で生き抜くためには必須なものであり、長い年月を保存されてきたのである。これは、真正細菌達の未知の横顔を垣間見せるものである。機能の未知なグループ2シグマ因子の役割を明らかにすることができれば、その細菌群が生きてきた環境や、多様で特異的な生存戦略を理解する手がかりになるはずである。近

年、多くの真正細菌のゲノム配列が明らかにされてきたが、これはグループ2シグマ因子同様、多くの機能未知遺伝子の存在を浮き上がらせた。我々は、これら遺伝子機能の解明を通して、今まで知らなかった真正細菌の生活を知る、その途上にいる。

本研究の発端は、放線菌における固有の転写制御系を明らかにしようとするものであった。そこで見いだしたシグマ因子群の意味を探るために、大腸菌の精緻な転写研究のフィールドに足を踏み入れた。また、進化的な広がりや意義を求めて植物葉緑体にも研究対象を広げ、その分化の仕組の一端を明らかにすることができた。当初は、放線菌のシグマ因子遺伝子を扱うことで、このように多様な材料の研究に結びつくとは全く予想していなかった。特殊性の中にこそ一般性が隠されていたのである。

謝 辞

本研究は、東京大学分子細胞生物学研究所分子遺伝研究分野 (旧応用微生物研究所第二研究部) で行ったものであり、終始ご指導、ご鞭撻をいただきました東京大学教授高橋秀夫先生に深く感謝いたします。また共に研究を進め、ご協力をいただきました当研究室の皆様にご礼申し上げます。特に、急逝された大久保節子さんと高柳裕子さんのお名前はこちらに挙げさせていただきたいと思います。この研究に暖かいご支援をいただきました東京大学名誉教授齋藤日向先生、当研究室の諸先生、長期にわたる共同研究をさせていただいた国立遺伝学研究所教授 石浜 明先生、東京大学理学部教授 黒岩常祥先生、諸先生に深く御礼申し上げます。

- 1) F. Jacob and J. Monod: *J. Mol. Biol.*, **3**, 318-356 (1961).
- 2) A. Ishihama: *Annu. Rev. Microbiol.*, **54**, 499-518 (2000).
- 3) A. Kolb, S. Busby, H. Buc, S. Garges, and S. Adhya: *Annu. Rev. Biochem.*, **62**, 749-795 (1993).
- 4) A. A. Travers: *Nature*, **223**, 1107-1110 (1969).
- 5) B. K. Chelms, C. Beard, and E. P. Geiduschek: *Biochemistry*, **20**, 6564-6569 (1981).

- 6) R. Losick and J. Pero: *Cell*, **25**, 582–584 (1981).
- 7) P. Stragier, J. Bouvier, C. Bonamy, and J. Szulmajster: *Nature*, **312**, 376–378.
- 8) A. D. Grossman, J. W. Erickson, and C. A. Gross: *Cell*, **38**, 383–390 (1984).
- 9) Z. Burton, R. R. Burgess, J. Lin, D. Moore, S. Holder, and C. A. Gross: *Nucl. Acids Res.*, **9**, 2889–2903 (1981).
- 10) M. A. Gitt, L.-F. Wang, and R. H. Doi: *J. Biol. Chem.*, **260**, 7178–7185 (1985).
- 11) J. Westpheling, M. Rane, and R. Losick: *Nature*, **313**, 22–27 (1985).
- 12) M. J. Buttner, A. M. Smith, and M. J. Bibb: *Cell*, **52**, 599–607 (1988).
- 13) K. Tanaka, T. Shiina, and H. Takahashi: *Science*, **242**, 1040–1042 (1988).
- 14) K. Tanaka, S. Masuda, and H. Takahashi: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**, 1113–1117 (1992).
- 15) M. Lonetto, M. Gribskov, and C. A. Gross: *J. Bacteriol.*, **174**, 3843–3849 (1992).
- 16) M. J. Buttner, K. F. Chater, and M. J. Bibb: *J. Bacteriol.*, **172**, 3367–3378 (1990).
- 17) M. R. Mulvey and P. C. Loewen: *Nucl. Acids Res.*, **17**, 9979–9991 (1989).
- 18) P. C. Loewen and R. Hengge-Aronis: *Annu. Rev. Microbiol.*, **48**, 53–80 (1994).
- 19) R. Hengge-Aronis: *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **66**, 373–395 (2002).
- 20) K. Tanaka, Y. Takayanagi, N. Fujita, A. Ishihama, and H. Takahashi: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**, 3511–3515 (1993).
- 21) S. Kusano, Q. Ding, N. Fujita, and A. Ishihama: *J. Biol. Chem.*, **271**, 1998–2004 (1996).
- 22) M. Ohnuma, N. Fujita, A. Ishihama, K. Tanaka, and H. Takahashi: *J. Bacteriol.*, **182**, 4628–4631 (2000).
- 23) B. Brahamsha and R. Haselkorn: *J. Bacteriol.*, **174**, 7273–7282 (1992).
- 24) I. Y. Khudyakov and J. W. Golden: *J. Bacteriol.*, **183**, 6667–6675 (2001).
- 25) L. F. Caslake, T. M. Gruber, and D. A. Bryant: *Microbiology*, **143**, 3807–3818 (1997).
- 26) T. M. Gruber and D. A. Bryant: *Arch. Microbiol.*, **169**, 211–219 (1998).
- 27) T. Kaneko *et al.*: *DNA Res.*, **3**, 109–136 (1996).
- 28) A. Goto-Seki, M. Shirokane, S. Masuda, K. Tanaka, and H. Takahashi: *Mol. Microbiol.*, **34**, 473–484 (1999).
- 29) K. Ohyama *et al.*: *Nature*, **322**, 572–574 (1986).
- 30) K. Shinozaki *et al.*: *EMBO J.*, **5**, 2043–2049 (1986).
- 31) A. Weihe and T. Borner: *Trends Plant Sci.*, **4**, 169–170 (1999).
- 32) K. Tanaka, K. Oikawa, N. Ohta, H. Kuroiwa, T. Kuroiwa, and H. Takahashi: *Science*, **272**, 1932–1935 (1996).
- 33) B. Liu and R. F. Troxler: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **93**, 3313–3318 (1996).
- 34) K. Oikawa, K. Tanaka, and H. Takahashi: *Gene*, **210**, 277–285 (1998).
- 35) M. Reith: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **46**, 549–575 (1995).
- 36) K. Tanaka, Y. Tozawa, N. Mochizuki, K. Shinozaki, A. Nagatani, K. Wakasa, and H. Takahashi: *FEBS Lett.*, **413**, 309–313 (1997).
- 37) K. Kanamaru *et al.*: *Plant Cell Physiol.*, **40**, 832–842 (1999).
- 38) K. Isono, M. Shimizu, K. Yoshimoto, Y. Niwa, K. Satoh, A. Yokota, and H. Kobayashi: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **94**, 14948–14953 (1997).
- 39) M. Fujiwara, A. Nagashima, K. Kanamaru, K. Tanaka, and H. Takahashi: *FEBS Lett.*, **481**, 47–52 (2000).
- 40) K. Oikawa, M. Fujiwara, E. Nakazato, K. Tanaka, and H. Takahashi: *Gene*, **261**, 221–228 (2000).
- 41) Y. Tozawa, K. Tanaka, H. Takahashi, and K. Wakasa: *Nucl. Acids Res.*, **26**, 415–419 (1998).
- 42) S. Tan and R. F. Troxler: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 5316–5321 (1999).
- 43) S. D. Lahiri, J. Yao, C. McCumbers, and L. A. Allison: *Mol. Cell. Biol. Res. Commun.*, **1**, 14–20 (1999).
- 44) S. Lerbs-Mache: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**, 5809–5513 (1993).
- 45) L. A. Allison, L. D. Simon, and P. Maliga: *EMBO J.*, **15**, 2802–2809 (1996).
- 46) B. Hedtke, T. Borner, and A. Weihe: *Science*, **277**, 809–811 (1997).
- 47) Y. Shirano *et al.*: *FEBS Lett.*, **485**, 178–182 (2000).
- 48) K. Kanamaru, A. Nagashima, M. Fujiwara, H. Shimada, Y. Shirano, K. Nakabayashi, D. Shibata, K. Tanaka, and H. Takahashi: *Plant Cell Physiol.*, **42**, 1034–1043 (2001).
- 49) D. V. Vavilin and W. F. Vermaas: *Physiol. Plant.*, **115**, 9–24 (2002).
- 50) Y. Tsunoyama, K. Morikawa, T. Shiina, and Y. Toyoshima: *FEBS Lett.*, **516**, 225–228 (2002).

プロフィール

田中 寛 たなか・かん

昭和 38 年 1 月 6 日生まれ

〈略歴〉 昭和 60 年 3 月東京大学農学部農芸化学科卒業

平成 2 年 3 月東京大学大学院農学系研究科博士課程卒業

平成 2 年 4 月～平成 3 年 3 月日本学術振興会特別研究員

平成 3 年 4 月～平成 5 年 3 月東京大学応用微生物学研究所助手

平成 5 年 4 月～改組により東京大学分子細胞生物学研究所助手

平成 9 年 7 月～東京大学分子細胞生物学研究所助教授

平成 12 年 4 月～平成 14 年 3 月国立遺伝学研究所客員助教授（併任）

〈研究テーマ〉 1) 真正細菌の栄養飢餓時・ストレス時・増殖相の遷移時における転写装置の変換機構

2) 色素ゲノムの情報発現と葉緑体の分化メカニズム

将来的には微生物や葉緑体を用いた物質生産も念頭に置いて研究を考えている。