

光合成生物におけるアブシジン酸をシグナル物質とした環境ストレス応答の進化プロセスの解析

吉田 賢 司

Evolutionary Process of Stress Response Systems Controlled by Abscisic Acid in Photosynthetic Organisms

Kenji YOSHIDA

Environmental Biotechnology Laboratory, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, 1-6 Yamada-oka, Suita City 565-0871, Japan

(Received August 20, 2005)

There are many serious problems causing a food crisis such as desertification, population explosion, and environmental destruction, suggesting that a severe food crisis will become reality across the globe. Therefore, the transgenic plants, which have tolerance to environmental stresses, may take on greater and greater importance in attempts to increase food production. Aquatic photosynthetic organisms, such as prokaryotic cyanobacteria and eukaryotic green algae, are considered as an evolutionary origin of higher plants and their basic metabolisms including photosynthesis are similar to higher plants. Thereby, stress responsive genes or reactions from these organisms may be exceedingly advantageous sources for creation of stress-tolerant transgenic plants. In this study, the physiological roles and biosynthesis of abscisic acid (ABA), well known as a signal molecule in the adaptation to environmental stresses, in microalgae were investigated from the point of the view of its functional evolution in the response to environmental stresses. *Chlamydomonas reinhardtii*, a green alga, and *Synechocystis* sp. PCC 6803, a cyanobacterium, were employed in this study as model organisms. It is expected that this comparative analysis will provide basic information for the creation of stress-tolerant transgenic plants. ABA may act in *C. reinhardtii* as a signal molecule to induce antioxidant reactions for elimination of reactive oxygen species, but not to induce specific response reactions to mitigate water stresses. In *Synechocystis*, on the other hand, exogenously added ABA did not influence the growth and gene expression. Moreover, ABA did not relieve growth suppression caused by water and oxidative stresses. From the carotenoid composition and bioinformatic analysis, it can be suggested that the ABA biosynthetic pathway generally found in higher plants exists completely in *C. reinhardtii*, but incompletely in *Synechocystis*.

Key words—abscisic acid; microalgae; environmental stresses; evolutionary process; oxidative stress; 9-*cis* epoxy-carotenoid dioxygenase

1. はじめに

化石燃料の燃焼による大気中の二酸化炭素の増加は地球温暖化を招き、気候変動により砂漠化・農地の荒廃が引き起こされ、いわゆる「食糧問題」は、深刻になるばかりである。この原因として、第1に先進諸国による大量消費・大量廃棄の消費社会が挙

げられ、第2には開発途上国の急激な人口増加が挙げられる。1900年には15億人であった世界人口は1978年に50億人、1999年10月に60億人を超え、現在では既に63億人を超えている。このペースで増加が続けば、2050年には90億人に達すると考えられている。一方、食糧供給量から地球の定員を逆算すると、最大でも80億人分にしかない。しかし、この計算は穀物をすべて食用に供したときの値であり、現実には50%近くが家畜の飼料などの目的で消費されているため、実際のところ約50—60億人分を供給するのが限界であると考えられている。また、地球上の耕作地は既に開発され尽されており、これ以上の拡大は見込めない。さらに、機

大阪大学大学院薬学研究科微生物制御学分野 (〒565-0871 吹田市山田丘1-6)

現住所：大日本住友製薬株式会社ゲノム科学研究所ゲノム研究第1グループ (〒554-0022 大阪市此花区春日出中3-1-98)

e-mail: kenji-yoshida@ds-pharma.co.jp

本総説は、平成16年度日本薬学会近畿支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

械化農業，化学化農業によって肥沃な表層土が激減しており，かつては肥沃であった農地のうちの40%以上が失われつつあるとも言われている。したがって，悪化の一途をたどる農業環境で，今後現在と同じ量あるいはそれ以上の農作物を生産するためには，「粗放農業」と言われるエネルギー低投入持続型農業を導入しなければならない。しかしながら，エネルギー低投入型の粗放農業を可能にするためには，植物が生育する上で障害となる物理化学的，生物的ストレスに耐え得る新しい品種を作成しなければならない。古くから，人類は長い時間をかけて品種改良を行い，ストレスに対して耐性を持つ品種を選抜することによって植物生産量を向上させてきた。近年の遺伝子工学的手法の発達によって，特定の遺伝子発現を人為的に誘導あるいは抑制するための新しい技術が開発された。したがって，ストレス耐性に関わる遺伝子を人為的に制御することによって，ストレスに対して耐性を持つ品種を比較的容易に短時間で作成することが可能になりつつあり，来るべき食糧問題の解決策への1つとして期待されている（Fig. 1）。これまでに，他種生物由来の遺伝子を導入した環境ストレス耐性植物の作成が試みられたが，遺伝子発現の制御が困難であることや，代謝のバランスが著しく崩れてしまうなどの理由から，環境ストレス耐性の有意な上昇は達成されていない。また，高等植物由来の遺伝子を導入した耐性植物の作成も試みられたが，いまだ実用に耐えられる優れた組み換え植物は得られていない。これは，移動の自由を持たない高等植物が進化の過程で獲得した環境ストレス応答機構が非常に複雑であることから，その解明がいまだ不十分であり，遺伝子組み

換えの対象を的確に特定することが難しいためである。

高等植物においては，環境ストレス応答反応に関する研究が活発に行われている。これらの基礎研究によってこれまでに，外部からの環境ストレスを受容することによって，カルシウムイオンを始めとする細胞内二次メッセンジャーを介したシグナル伝達を引き起こされること，これらのシグナルは，関連するタンパク質のリン酸化による活性化を誘導し，環境ストレス応答性の遺伝子群の転写，翻訳を誘導すること，一方，これらの環境ストレス依存性の二次メッセンジャーは，アブシジン酸（ABA）やエチレンといった植物ホルモンの生合成も活性化し，上流からのシグナル伝達を再び引き起こすことによって環境ストレス応答反応を増幅し，植物の様々な環境への適応を可能にしていることなどが明らかになっている（Fig. 2）。¹⁾

ABAは，すべての高等植物に存在し，高等植物の環境ストレス適応において最も重要な機能を担っているシグナル分子であり，特に浸透圧，塩，低温ストレスといった物理化学的な環境ストレスと密接に関連していることが知られている。さらに，これらの環境ストレス条件下では細胞内のABA含量が上昇し，これにより様々な応答反応を引き起こされることが古くから知られている。²⁻⁵⁾最近，このABAをシグナル分子とした環境ストレス応答反応に関する，分子レベルあるいは遺伝子レベルでの研究が盛んに行われるようになり，その生理作用の詳細や生合成経路に関して多くの知見が得られている。例えば，モデル植物 *Arabidopsis thaliana* のゲノム解読などに代表される近年の遺伝子解析技術の

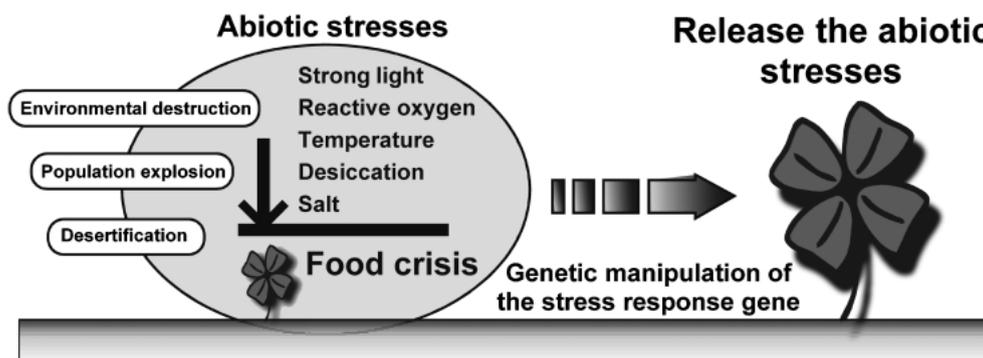


Fig. 1. Importance of Creation of Stress-tolerant Transgenic Plants to Solve Food Crisis

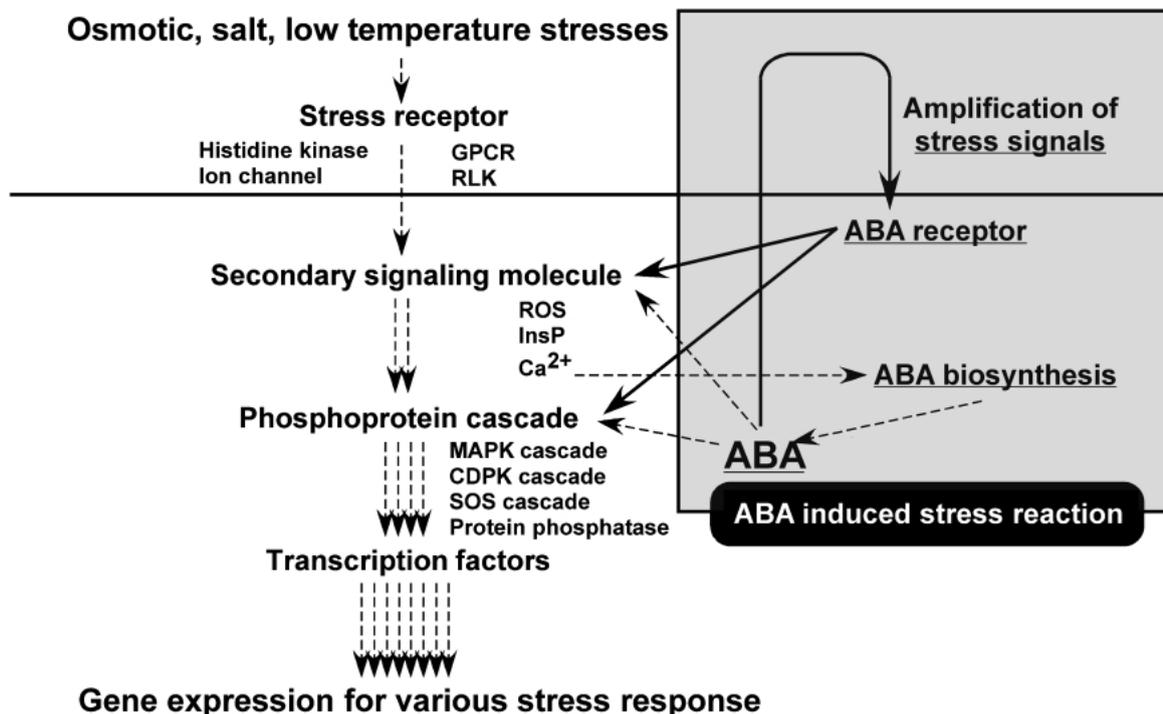


Fig. 2. Stress Response Reactions in Higher Plants

向上や、種々の変異体を用いた解析などによって、ABAによって誘導される応答反応やその発現制御メカニズムに関して急速に情報が蓄積されてきている。これらの研究の結果、高等植物におけるABA誘導性の遺伝子は数百にも上り、さらにABAは環境ストレス自体を緩和する機能遺伝子と、機能分子の制御に関わる制御遺伝子の両方の発現を制御していることが明らかになってきた。⁶⁻⁸⁾

また、ABAの生合成経路に関する数多くの研究が行われ、その全容が明らかになりつつある (Fig. 3)。すなわち、ABAは炭素数40のcarotenoidであるzeaxanthinを前駆体とし、酵素反応によってall-trans epoxy-carotenoids, 9-cis epoxy-carotenoids, xanthoxinといった中間体を経て生合成される。Zeaxanthinからall-trans epoxy-carotenoidsへの変換及び9-cis epoxy-carotenoidsからxanthoxinへの変換反応に関与する酵素としてzeaxanthin epoxidase (ZEP) や9-cis epoxy-carotenoid dioxygenase (NCED) が単離されており、環境ストレス条件下におけるこれらの遺伝子の発現変動が細胞内ABA含量の変動と密接に関連していることが示されている。⁹⁻¹¹⁾

さて、高等植物と同じ光独立栄養生物である原核生物のラン藻、真核生物の緑藻といった水棲光合成

生物は、光合成を含めた基本的な代謝系が高等植物と極めて類似しており、その進化上の起源であると考えられている。したがって、これらの生物に由来する遺伝子は高等植物に導入しても発現や制御が比較的容易で、代謝のバランスを著しく崩す可能性も低いと予想される。一方で、陸上の高等植物とは全く異なった環境で生育しているため、高等植物にはない優秀な環境ストレス応答反応やユニークな反応調節機構を持っている可能性がある。これらのことから、ラン藻や緑藻は、環境ストレス耐性植物を作成するための遺伝子源として非常に有用であると考えられるため、これらの生物における環境ストレス応答機構の詳細な解明に向けて、精力的に研究が行われている。しかしながら、高等植物への遺伝子導入の際に生じる様々な障害を回避し、実用に耐え得る次世代の環境ストレス耐性植物を合目的に作成するためには、これらの生物における環境ストレス応答機構を高等植物と比較することによって、その多様性や進化プロセスを明らかにすることが必要不可欠である。これまでは、このような種を超えた比較解析を行うためには多大な労力が必要であったが、種々の生物のゲノム解読やゲノム情報生物学の進歩によって、ゲノムレベルでの情報が急速に蓄積されつつあることから、現在ではこのような解析も比較

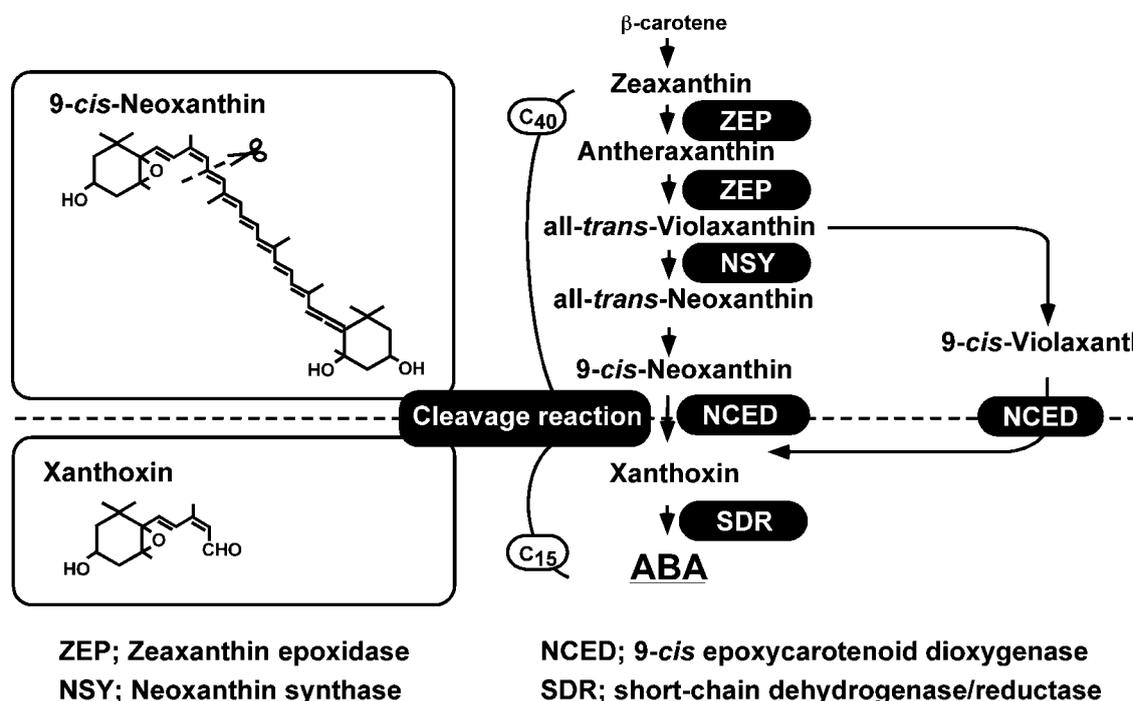


Fig. 3. Biosynthetic Pathway of ABA in Higher Plants

的容易に行うことが可能となってきた。しかしながら、現時点ではこのような観点に基づいて比較解析を行い、環境ストレス応答機構の多様性やその進化プロセスを明らかにした研究はない。高等植物における環境ストレス応答機構は、水棲のラン藻や緑藻から陸棲の高等植物へと進化していく過程で劇的に変化する環境に適応するために、多様化が進み、機能進化してきたと予想される。特に、ABAをシグナル分子とした応答反応は、高等植物が環境ストレスを回避して生存、繁栄するために最も重要な役割を果たすことから、種としての進化過程で高度な発達達成されたと考えられる。したがって、ラン藻や緑藻におけるABAをシグナル分子とした環境ストレス応答反応やその進化プロセスを明らかにすることによって、次世代の環境ストレス耐性植物を作成するために非常に有益な情報を提供できる。

ラン藻や緑藻にABAが存在することは古くから知られていることから、高等植物と同様に環境ストレス応答反応を誘導するシグナル分子として機能すると考えられているが、これらの生物については、高等植物のような体系だった解析研究は行われてこなかった。そこでわれわれは、ラン藻と緑藻を材料として、ABAの機能とその生合成経路について解析し、得られた結果を高等植物と比較することによ

り、光独立栄養生物の進化に伴うABAをシグナル分子とした環境ストレス応答反応の進化プロセスを解明することを試みた。この研究の目的は、第1に、原核生物であるラン藻が真核の単細胞緑藻を経て陸上に進出し高等植物へと進化する過程で獲得、高度化したABAをシグナル分子とする環境ストレス応答反応の履歴を明らかにすることであり、第2に、次世代の環境ストレス耐性植物の作成に必要な基礎的情報を的確に得るための手段として有用な、比較解析の手法を提案することにある。本総説では、光合成生物間の詳細な比較解析によって得られた成果を中心に、光合成生物におけるABAをシグナル物質とした環境ストレス応答の進化プロセスについて考察したい。

2. 緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* における ABA の生理作用

真核の単細胞緑藻は、光合成生物の基本的な代謝に関するモデル生物として広く利用されてきた。現在ゲノムプロジェクトが進行中であり、環境ストレス応答反応に関する基本的な情報も蓄積されてきている。しかしながら、ABAに関しては内在することが明らかになっているものの、生理作用や生合成経路については全く研究が行われてこなかった。

既に述べたように、高等植物においてABAは数

百もの遺伝子の発現を誘導することが明らかにされており、これらは、環境ストレス自体を緩和する機能遺伝子と、機能分子の制御に関わる制御遺伝子に分けられる。さらにこの ABA 誘導性機能遺伝子の中には、環境ストレス独自の傷害を緩和するものと、様々な環境ストレスによって二次的に発生する酸化ストレスによる傷害を緩和するものが含まれている。⁶⁻⁸⁾ 最近、ABA をシグナル分子とした応答反応の二次メッセンジャーとして reactive oxygen species (ROS) が利用されていることが明らかになったことから、^{12,13)} 高等植物における ABA 誘導性応答反応の中でも、酸化ストレスに対する応答反応が特に注目を集めており、これまでに superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) といった活性酸素消去酵素群の遺伝子発現や活性が ABA 処理によって誘導されることが報告されている。¹⁴⁻²¹⁾

そこで、これらの情報を参考にして、ここでは緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* における ABA の生理作用について解析を行い、その結果を高等植物と比較した。

ABA が *C. reinhardtii* の増殖に与える影響について検討したところ、連続光照射培養時に増殖促進効果が認められた (Fig. 4)。一方、暗条件では増殖

促進は認められなかった。この結果は、ABA によって連続光照射に起因する酸化ストレスが緩和されたことによるものであると考えられる。そこで、人工的に強い酸化ストレスを引き起こす目的で農業 paraquat を添加して培養した細胞における ABA の増殖に対する影響を調べたところ、ABA によって paraquat に起因する増殖抑制が有意に緩和された (Fig. 5(a))。次に、この酸化ストレス緩和メカニズムについて詳しく検討するために、paraquat によって生成する細胞内の ROS 量を測定し、ROS 生成に及ぼす ABA の影響を調べた。その結果、500 μM の ABA による 24 時間の前処理によって ROS 生成が有意に抑制されることが明らかとなった (Fig. 5(b))。

そこで、ABA によって誘導される ROS 消去機構に関する考察として、代表的な抗酸化酵素の遺伝子発現及び活性に対する影響を調べた。この結果、catalase 及び ascorbate peroxidase の遺伝子発現 (RT-PCR) 及び酵素活性が ABA 処理によって上昇することが明らかになった (Fig. 6)。ここには示していないが、この遺伝子発現の上昇は、ABA 無処理の細胞に浸透圧や塩ストレスを負荷したときの誘導レベルと同等であった。

さらに、水棲生物の生育環境でも起こり得る、浸

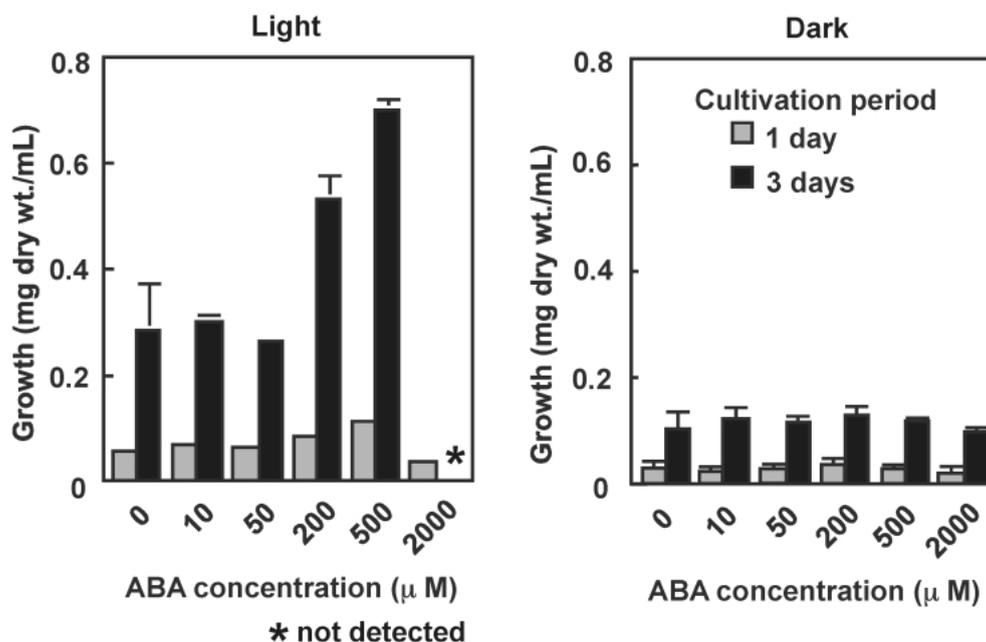


Fig. 4. Effect of ABA Concentration on Growth of *C. reinhardtii*

The cells were cultivated in the presence of the indicated concentration of ABA under continuous illumination or in the dark. Values are the mean \pm S.D. of three independent experiments.

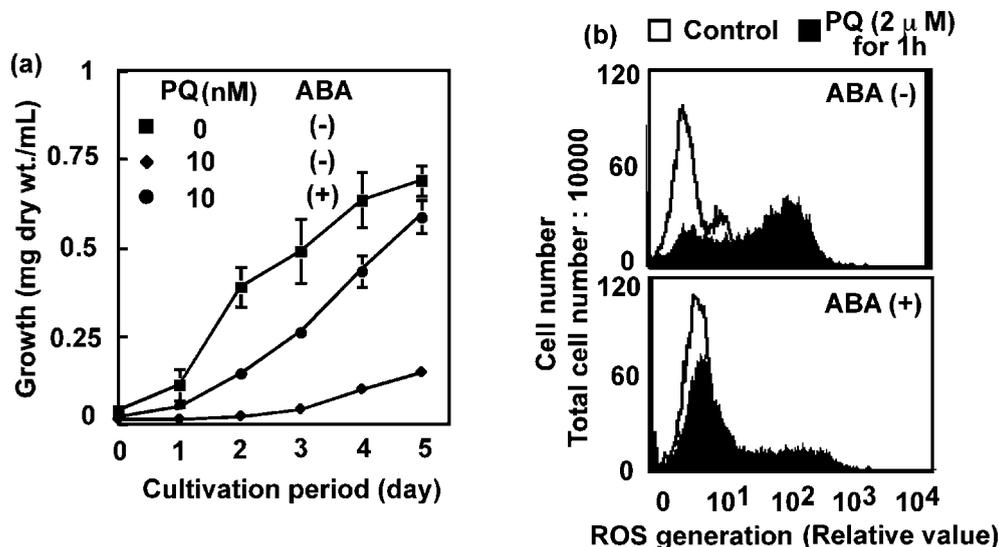


Fig. 5. Release of Oxidative Stress by ABA

(a) Effect of ABA on the growth of *C. reinhardtii* cultivated under the oxidative stress caused by paraquat. Values are the mean \pm S.D. of three independent experiments. (b) Effect of ABA treatment on ROS generation in *C. reinhardtii* after incubation with paraquat.

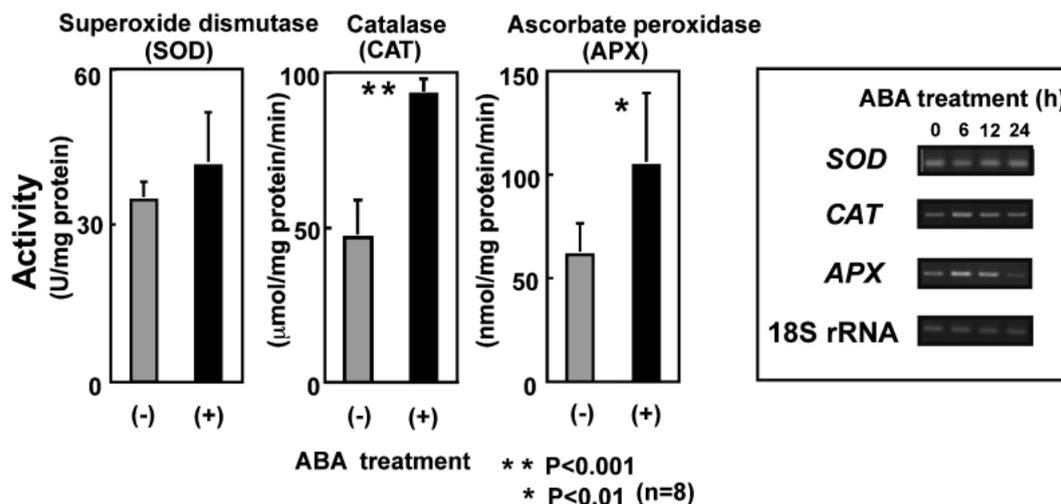


Fig. 6. Effect of ABA Treatment on Activities and Gene Expression of Antioxidant Enzymes, Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Ascorbate Peroxidase (APX) in *C. reinhardtii*

Values are the mean \pm S.D. of eight independent experiments. Asterisks indicate a significant difference by student's *t*-test compared to the control (** $p < 0.001$; * $p < 0.01$).

透圧及び塩濃度の上昇によって惹起されるストレスについて ABA の緩和作用を調べたところ、浸透圧及び塩ストレスによる増殖抑制も緩和することが明らかになった。光合成生物が環境ストレスに曝された場合、それぞれの細胞は環境ストレスによって直接傷害を受けるとともに、これらのストレスによって惹起される ROS 生成に起因する酸化ストレスによっても傷害を受けることが広く知られている。²²⁾ これまでの検討から、*C. reinhardtii* においても浸透圧、塩ストレス条件下で光照射によって ROS の

生成が惹起され、細胞活性の低下を招くことを明らかにしている。そこで、ABA が浸透圧、塩ストレスによる増殖抑制を緩和するのは、直接傷害あるいは二次的な酸化傷害のいずれを緩和したことによるものかを明らかにするために、ABA 処理を行った細胞に対して短時間のストレスを負荷し、その後の細胞活性及び光合成活性を調べた。この結果、ABA 処理群と無処理群の間に、ストレス負荷後の細胞活性及び光合成活性に有意な差は認められなかった。このことから、ABA が浸透圧、塩ストレス

による増殖抑制を緩和したのは、ABAによって誘導されたCATやAPXがこれらの環境ストレスによって二次的に引き起こされる酸化ストレスを軽減した結果であることが示唆された。

これらの結果より、*C. reinhardtii*においては、ABAは高等植物のように、様々なストレスに対して多用な応答反応を誘導するのではなく、酸化ストレスに対して特異的な応答反応のみを引き起こすと考えられる。^{23,24)}

3. ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC6803 における ABA の生理作用

1970年代以降、ラン藻における内在性ABAの検出やその生理作用についてはいくつか報告があり、ABAがカルシウムイオンの透過性やnitrogenaseの活性を上昇させる作用を持つ可能性が示された。このことから、ABAがラン藻においても生理作用を持つシグナル分子として機能されると予想されているが、²⁵⁻²⁷⁾以降の研究は進展しておらず、応答反応の遺伝子レベルでの解析や生合成経路に関する知見は全く得られていない。近年のゲノム比較解析などの結果から、ラン藻 *Synechocystis* は高等植物の葉緑体と非常に類似しており、内部共生により真核光合成生物における葉緑体の起源となったラン藻と近縁であると考えられている。²⁸⁾ この株は、原核の単細胞ラン藻であり、培養や細胞レベルでの解析が容易であること、外来遺伝子を自発的に細胞内に取り込む性質を持ち、これを利用した遺伝子破壊が可能であること、また、全ゲノム塩基配列の解読が完了しており、この情報を利用したDNA microarrayが既に作成されていることなどから、環境ストレス応答反応に関する研究材料として広く用いられ、細胞、遺伝子レベルの関連情報が蓄積されてきている。そこでここでは、*Synechocystis* におけるABAの生理作用について解析を行い、その結果を高等植物や *C. reinhardtii* と比較した。

C. reinhardtii と同様に、ABAが *Synechocystis* の増殖に与える影響について検討を行った。また、DNA microarrayを用いて、ABA処理の全遺伝子の発現に対する影響についても検討した。この結果、処理濃度や処理時間に関わらず、増殖及び遺伝子発現のどちらにおいてもABAによる影響は認められなかった。高等植物においては、ABA依存性及び非依存性の環境ストレス応答反応のクロスオー

クが行われている可能性が高いことから、²⁹⁾ 本株における浸透圧、塩及び酸化ストレス条件下での増殖に対するABAの影響についても検討を行ったが、これらのストレスに対する緩和効果は全く認められなかった。したがって、原核光独立栄養生物である *Synechocystis* においては、ABAは高等植物や *C. reinhardtii* とは異なり、環境ストレスを緩和する応答反応を誘導するシグナル分子として機能しないと考えられる。

4. 緑藻及びラン藻における ABA 生合成経路

当初、高等植物におけるABA生合成経路には mevalonic acid からの直接経路と carotenoid からの間接経路の2種類が提案されていた。その後の変異株を用いた研究によって、高等植物に存在するABAはすべて炭素数40のcarotenoidから数段階の酸化的反応を経て生合成されることが明らかにされ、これらの反応を触媒する酵素の遺伝子が単離された (Fig. 3).⁹⁻¹¹⁾ 高等植物におけるABAの生合成の中で最も重要な役割を担っている酵素は、9-*cis* epoxy-carotenoid dioxygenase (NCED) であると考えられている。これは、NCEDが炭素数40の9-*cis* epoxy-carotenoidを酸化的に切断して xanthoxin を生成する carotenoid 代謝系から分岐した反応を触媒すること、細胞内の9-*cis* epoxy-carotenoid 含量と xanthoxin 含量に大きな差があることなどから、この反応がABA生合成の律速反応と考えられ、さらに、xanthoxinからABAへの変換は自発的に起こると考えられており、律速段階が存在する可能性が低いことによる。これまでに、NCED遺伝子の発現が乾燥や塩ストレスによって上昇することや、^{30,31)} その基質特異性などについての知見が得られている。³²⁾ 緑藻やラン藻も高等植物と類似した carotenoid 合成系を保持していることから、高等植物と同じ経路でABAが生合成されると予想される。

そこで、これらの情報を基に、*C. reinhardtii* 及び *Synechocystis* におけるABA生合成系の中間体及び生合成系遺伝子の存在について高等植物と比較し、これらの生物におけるABAの生合成経路について考察した。

C. reinhardtii 及び *Synechocystis* に、zeaxanthin, epoxy-carotenoid である violaxanthin や neoxanthin などのABA生合成中間体及び内在性ABAが存在しているかどうかを調べた。また、生合成関連遺伝

子の存在をデータベースから検索した (Table 1). この結果, *C. reinhardtii* には, 高等植物よりも含量は低いものの, ABA の存在が確認できた. また, 生合成中間体や生合成関連遺伝子の存在もほぼすべて確認された. したがって, *C. reinhardtii* においては, 高等植物と同様の酵素反応からなる ABA 生合成経路が存在していると考えられる. そこで, *C. reinhardtii* の EST データベースの中から高等植物の *NCED* に類似した配列を抽出し, この配列を含む mRNA の発現に及ぼす浸透圧, 塩及び酸化ストレスの影響を RT-PCR 法で解析した. その結果, これらの遺伝子は, 外部から負荷した酸化ストレスのみによって発現が誘導された. したがって, ABA の生合成は酸化ストレスによって特異的に制御されていると考えられ, これは, ABA によって誘導される応答反応が酸化ストレスに対して特異的であることと整合性がある.

これに対して, *Synechocystis* においては内在性の ABA が極微量存在していることが明らかになったものの, 生合成中間体は細胞内にほとんど存在しておらず, 生合成関連酵素の存在についても確証は得られなかった. さらに, データベース上の検索で得られた *NCED* 類似遺伝子の破壊株を作成したが, 内在性 ABA 含量には野生株との有意な差は認められなかった. これらの結果は, 酵素反応からなる生合成経路がラン藻には存在しないことを強く示唆するものであり, ABA は非酵素的分解物としてラン藻中に存在すると考えられる. すなわち,

ABA の前駆体である carotenoid から ABA への変換反応が, 酸化的環境下にある細胞内で自発的に進行するという仮説が成り立つ. 具体的には, ABA の前駆体である carotenoid は光合成の光受容に利用されていること, 光合成に起因するエネルギー転移の過程で多くの反応性の高いラジカルが生成すること, 光合成が行われている細胞の酸素分圧は著しく高いことなどから, *Synechocystis* においては, 光合成に依存した carotenoid の非酵素的分解によって ABA が生成したと考えられる. そこで, この可能性を検証するために, 強光を照射した *Synechocystis* 細胞の carotenoid 類を LC-MS 分析したところ, 微量ではあるが ABA 生合成中間体と考えられる物質の生成が観察された. また, 2.7 μg の carotenoid 標品に 6 時間の強光照射や 2 時間の UV 照射を行ったところ, 極めて微量ではあるもののそれぞれ, 7.6, 21.4 pg の ABA の生成が確認された. これらの結果は, ラン藻において ABA が carotenoid から非酵素的酸化反応によって生成されるという上記の仮説を支持するものである.

5. おわりに

以上の検討によって, 次世代のストレス耐性植物を作成するために必要な基礎的情報の 1 つとして, ラン藻及び緑藻における高等植物のストレスホルモン ABA の生理作用と生合成経路に関して以下のような新たな知見を得た.

1) 緑藻 *C. reinhardtii* において ABA は, 高等植物と同様にシグナル分子として機能し, 酸化スト

Table 1. Comparison of Metabolic Intermediates and Genes Encoding Enzymes in ABA Biosynthetic Pathway among Higher Plant, *Arabidopsis thaliana*, Green Alga, *C. reinhardtii*, and Cyanobacterium, *Synechocystis*

	<i>A. thaliana</i>	<i>C. reinhardtii</i>	<i>Synechocystis</i> sp.
Zeaxanthin	+	+	+
all-trans-Viola or Neoxanthin	+	+	-
9-cis-Viola or Neoxanthin	+	+	-
Xanthoxin	+	?	?
ABA content	High	Low	Extremely low
	<i>A. thaliana</i>	<i>C. reinhardtii</i>	<i>Synechocystis</i> sp.
ZEP	○	○	×
NSY	○	△	×
NCED	○	△	△
SDR	○	?	△

○: Identified, △: Homologous sequence was found, ×: Not found.

レス特異的な応答反応を引き起こすことが明らかになった。一方、ラン藻 *Synechocystis* において ABA は、高等植物や緑藻とは異なりシグナル分子としての機能を持たないことが明らかになった。

2) 緑藻 *C. reinhardtii* においては、高等植物と同様に酵素反応からなる ABA の生合成経路が存在することが明らかになり、またその生合成は酸化ストレス特異的に誘導されることが明らかになった。一方、ラン藻 *Synechocystis* においては、高等植物や緑藻とは異なり酵素反応からなる ABA の生合成経路は存在せず、細胞内に極微量に存在する ABA は強光照射などによって非酵素的に生成したものである可能性が示唆された。

ラン藻、緑藻や高等植物は、光合成を始めとした基本的な代謝経路が大変類似しているにも関わらず、環境ストレス応答機構には大きな相違点があることが明らかとなった。そこでこれまでに明らかにされた情報を基に、光合成生物における ABA をシグナル分子とした環境ストレス応答の進化プロセスについて考察した (Fig. 7)。すなわち、ABA は原核生物であるラン藻の段階では単に carotenoid の光分解産物として存在し、環境ストレス応答反応のシグナル分子としての機能は持たないが、真核緑藻

へ進化した段階で酸化ストレス特異的な細胞内シグナル分子として機能すべく生合成系が整い、さらに陸棲植物へと進化する際に種々の環境ストレスに対する応答反応を誘導するシグナル分子として、より精密かつ複雑な生合成制御機構が発達し、多様な機能を果たすようになったと考えられる。

本総説で述べたような光合成生物間の詳細な比較解析は、環境ストレス応答機構の多様性や進化プロセスを解明する上で非常に有効な方法である。また、環境ストレス耐性植物の作成においても、大変貴重な情報になり得るものである。本総説においては、シグナル分子である ABA をターゲットとした解析を中心に記述したが、シグナル分子のみではなく、環境ストレスを直接緩和する機能タンパク質や、その制御メカニズムについても研究が行われ始めてきており、高等植物と他の光合成生物間の共通点、相違点についての基礎的知見が蓄積されてきている。これらの情報を利用した今後の更なる研究の展開によって、ストレスに対する特異性の向上や、発現組織あるいは発現時期などの厳密な制御が達成された、次世代の環境ストレス耐性植物が作成される日が訪れることが期待される。

	Higher plant	Green alga (<i>Chlamydomonas</i>)	Cyanobacterium (<i>Synechocystis</i>)
Cell	Multi cellular	Unicellular	Unicellular
Environment	Terrestrial	Aquatic	Aquatic
Receptor for ABA	Both in intracellular and plasma membrane?	Intracellular?	None?
Biosynthetic pathway	<p>Specific enzymes of ABA biosynthetic pathways have been identified</p>	<p>Enzymes of ABA biosynthetic pathways are appeared in order to use ABA as a signal molecule</p>	<p>ABA might be synthesized non-enzymatically.</p>
Response to ABA	Response multiply to environmental stresses	Response only to oxidative stress	No response
	<p>In a process of adaptation to aerial conditions and evolution from single cell to multicellular organisms, they were exposed to many kinds of environmental stresses such as drought and low temperature. ABA began to play an important roles as a signal molecule in multiple responses to many kinds of environmental stresses.</p>		<p>ABA might be synthesized accidentally as a by-product of carotenoids which were synthesized to shade strong light. This by-product formation may occurred through physicochemical conversion or oxidation of carotenoid. Thereby, ABA has developed to specific signal molecule to oxidative stress.</p>

Fig. 7. Evolutionary Process Model of Stress Response Systems Controlled by ABA in Photosynthetic Organisms

謝辞 本研究は大阪大学大学院薬学研究科微生物制御学分野にて行ったものであり、本研究の遂行に際し、ご指導ご鞭撻頂いた宮本和久教授（現・大阪大学名誉教授）、平田收正助教授をはじめとする大阪大学大学院薬学研究科微生物制御学分野の皆様にご感謝申し上げます。

REFERENCES

- 1) Xiong L., Schumaker K. S., Zhu J.-K., *Plant Cell*, **S165-S183** (2002).
- 2) Zeevaart J. A. D., Creelman R. A., *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **39**, 439-473 (1988).
- 3) Giraudat J., Parcy F., Bertauche N., Gosti F., Leung J., Morris P.-C., Bouvier-Durand M., Vartanian N., *Plant Mol. Biol.*, **26**, 1557-1577 (1994).
- 4) Merlot S., Giraudat J., *Plant Physiol.*, **114**, 751-757 (1997).
- 5) Leung J., Giraudat J., *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **49**, 199-222 (1998).
- 6) Seki M., Ishida J., Narusaka M., Fujita M., Nanjo T., Umezawa T., Kamiya A., Nakajima M., Enju A., Sakurai T., Satou M., Akiyama K., Yamaguchi-Shinozaki K., Carninci P., Kawai J., Hayashizaki Y., Shinozaki K., *Funct. Integr. Genomics*, **2**, 282-291 (2002).
- 7) Hoth S., Morgante M., Sanchez J.-P., Hanafey M. K., Tingey S. V., Chua N.-H., *J. Cell Sci.*, **115**, 4891-4900 (2002).
- 8) Lin F., Xu S. L., Ni W. M., Chu Z. Q., Xu Z. H., Xue H. W., *Cell Res.*, **13**, 59-68 (2003).
- 9) Seo M., Koshiba T., *Trends Plant Sci.*, **7**, 41-48 (2002).
- 10) Xiong L., Zhu J.-K., *Plant Physiol.*, **133**, 29-36 (2003).
- 11) Cutler A. J., Krochko J. E., *Trends Plant Sci.*, **4**, 472-478 (1999).
- 12) Finkelstein R. R., Gampala S. S. L., Rock C. D., *Plant Cell*, **S15-S45** (2002).
- 13) Neill S., Desikan R., Hancock J., *Curr. Opin. Plant Biol.*, **5**, 388-395 (2002).
- 14) Bellaire B. A., Carmody J., Braud J., Gossett D. R., Banks S. W., Cranlucas M., Fowler T. E., *Free Radic. Res.*, **33**, 531-545 (2000).
- 15) Bueno P., Piqueras A., Kurepa J., Savourè A., Verbruggen N., Montagu M. V., Inzè D., *Plant Sci.*, **138**, 27-34 (1998).
- 16) Jiang M., Zhang J., *Plant Cell Physiol.*, **42**, 1265-1273 (2001).
- 17) Jiang M., Zhang J., *J. Exp. Bot.*, **53**, 2401-2410 (2002).
- 18) Jiang M., Zhang J., *Free Radic. Res.*, **36**, 1001-1015 (2002).
- 19) Zhu D., Scandalios J. G., *Plant Physiol.*, **106**, 173-178 (1994).
- 20) Guan L. M., Zhao J., Scandalios J. G., *Plant J.*, **22**, 87-95 (2000).
- 21) Park S. Y., Ryu S. H., Jang L. C., Kwon S. Y., Kim J. G., Kwak S. S., *Mol. Genet. Genomics*, **271**, 339-346 (2004).
- 22) Dat J., Vandenabeele S., Vranová E., Van Montagu M., Inzè D., Van Breusegem F., *Cell. Mol. Life Sci.*, **57**, 779-795 (2000).
- 23) Yoshida K., Igarashi E., Hirata K., Miyamoto K., *Plant Cell Environ.*, **26**, 451-457 (2003).
- 24) Yoshida K., Igarashi E., Wakatsuki E., Miyamoto K., Hirata K., *Plant Sci.*, **167**, 1335-1341 (2004).
- 25) Close T. J., Lammers P. J., *Plant Physiol.*, **101**, 773-779 (1993).
- 26) Pandey P. K., Singh B. B., Mishra R., Bisen P. S., *Curr. Microbiol.*, **32**, 332-335 (1996).
- 27) Zahradnickova H., Marsalek B., Polisenka M., *J. Chromatogr.*, **555**, 239-245 (1991).
- 28) Mcfadden G. I., *Curr. Opin. Plant Biol.*, **2**, 513-519 (1999).
- 29) Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K., Seki M., *Curr. Opin. Plant Biol.*, **6**, 410-417 (2003).
- 30) Iuchi S., Kobayashi M., Taji T., Naramoto M., Seki M., Kato T., Tabata S., Kakubari Y., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., *Plant J.*, **27**, 325-333 (2001).
- 31) Iuchi S., Kobayashi M., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., *Plant Physiol.*, **123**, 553-562 (2000).
- 32) Schwartz S. H., Tan B. C., Mccarty D. R., Welch W., Zeevaart J. A., *Biochim. Biophys. Acta*, **1619**, 9-14 (2003).