

# C/N ストレス条件で TAG を高蓄積する 緑藻変異株 B10 株の解析

長房すずか<sup>1</sup>、宮本明日香<sup>1</sup>、新川はるか<sup>1</sup>、新川友貴<sup>1</sup>、山野隆志<sup>1</sup>、  
辻敬典<sup>1</sup>、梶川昌孝<sup>1,2</sup>、福澤秀哉<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>京大・院・生命、<sup>2</sup>近畿大学・生物理工

緑藻クラミドモナスは、高 CO<sub>2</sub>かつ窒素欠乏環境（C/N ストレス）下でトリアシルグリセロール（TAG）やデンプンを蓄積し、クロロフィルを失うことが知られている。我々はクラミドモナスにおいてタンパク質リン酸化酵素 TAG accumulation regulator 1（TAR1）が硫黄欠乏ならびに窒素欠乏環境で TAG 蓄積を制御すること [1]、さらに C/N ストレス条件において光合成活性の抑制や接合に必要であることを報告した [2]。この TAR1 以外に C/N ストレスの感知・応答機構に関わる因子を同定するために、高 CO<sub>2</sub>（5%）通気で窒素欠乏条件において、TAR1 欠損株よりも TAG を高蓄積し、クロロフィル残存量が高い変異株 B10 株を選抜した。B10 株では *coiled-coil domain containing protein 124*（*CCDC124*）ドメインを含む遺伝子の 5'UTR に薬剤耐性遺伝子カセットが挿入されていた。B10 株に野生型 *CCDC124* 遺伝子を導入すると TAG の蓄積・生存率・クロロフィル残存量の表現型が相補したことから、*CCDC124* 遺伝子が C/N ストレス応答異常の原因遺伝子であることが示唆された（2018 年 10 月日本植物学会）。

大腸菌で発現させた *CCDC124* タンパク質を用いて、ウサギ抗 *CCDC124* 抗体を作製し、ウェスタンブロットにより C/N ストレス条件下での *CCDC124* の蓄積量を調べたところ、*CCDC124* は C/N ストレス条件に移すと経時的に分解された。また野生株と TAR1 欠損株で *CCDC124* 蓄積量に変化は無かったことから、TAR1 が *CCDC124* の発現を直接的に制御している可能性は低いと推定した。

ヒトや酵母の *CCDC124* は、他のタンパク質との相互作用を介して細胞分裂を制御すること [3]、鉄飢餓応答に関与することが知られている [4]。そこでクラミドモナスの *CCDC124* も、他のタンパク質との相互作用を介して TAG 蓄積を制御している可能性があると考え、免疫沈降法による *CCDC124* の相互作用因子の探索を行っている。B10 株に FLAG タグ付きの *CCDC124* タンパク質を発現させ、抗 FLAG 抗体を用いて回収されたタンパク質を質量分析方により推定したところ、複数の候補因子が検出された。

[1] Kajikawa et al., *Plant Physiol.* 168: 752-764 (2015), [2] Shinkawa et al., *Plant Cell Physiol.* 60: 916-930 (2019), [3] Pelin et al., *PLOS One.* 8(7) :e69289 (2013), [4] An et al., *Microbiology Open.* 4(6): 941-951 (2015)