

解説

単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における窒素同化系とその制御[‡]

東京工業大学 資源化学研究所

田中 寛^{*}、今村 壮輔

1. はじめに

すべての生物はアミノ酸やヌクレオチド、糖質、脂質など、炭素、窒素、硫黄、リンなどの元素から構成された生体分子により構築されている。これら必須元素の中でも窒素はアミノ酸や核酸塩基の主要成分であり、生体の維持や成長には炭素に次ぐ量が必要とされる。植物や藻類のような独立栄養生物では、生体エネルギーは光合成の明反応系により、基本的には物質同化とは独立した形で供給されるので、これによりCO₂ (あるいはHCO₃⁻) を唯一の炭素源として増殖することが可能である。従って、これら生物における栄養素としての窒素の重要性は、他の従属栄養生物にも増して高いと言える。しかしながら、植物や真核藻類における窒素同化系やその制御についての知見は不十分なままであり、今後の研究に待つところが大きい。我々は真核光合成生物のモデル系として、真核細胞としても最も原始的で単純な単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (シズン) を用い、窒素同化系およびその制御系の解析を開始している。本稿では、シズンにおけるアンモニア、硝酸の同化経路と、その転写レベルでの発現調節について述べ、今後の問題点を明らかにしたい。

シズンはイタリアの硫酸酸性の温泉から単離された単細胞紅藻であり、細胞中に核・ミトコンドリア・葉緑体等のオルガネラを一個ずつしか含まない極めて単純な構造的特徴を示す¹⁾。さらに、他の藻類でしばしば観察されるようなM期での多重分裂をすることがなく、典型的な2分裂増殖を行なうことから、細胞やオルガネラの増殖周期の研究材料とするのに極めて都合が良い。我々を含む国内の研究チームにより、この藻類のミトコンドリアゲノム、葉緑体ゲノム、核ゲノムの完全塩基配列も決定され²⁻⁵⁾、オルガネラの分裂装置の解明、細胞周期制御の解析などでは

既に多くの成果が産み出されてきた⁶⁻¹⁰⁾。構造的な利点以外にも、シズン核ゲノムにおいては相同組換えを介した遺伝子破壊や遺伝子導入が可能であり、分子遺伝学的な解析手法を適用することができる¹¹⁻¹⁴⁾。

このようなシズン細胞の特性は当初から細胞分裂の研究に利用されてきたが、窒素同化のような代謝系の研究にあたっては当然ながら有効である。我々はまず、シズンのゲノム配列情報を元にして、窒素同化に関連すると考えられる遺伝子を抽出した。結果を表1に示す。シズンが通常条件で利用する主要な窒素源はNH₄⁺ (アンモニウムイオン) とNO₃⁻ (硝酸イオン) である。以下、これらの同化経路について解説する。

2. NH₄⁺同化経路

培地中に存在するNH₄⁺は特異的トランスポーター

表1 シズンゲノムに見いだされた窒素同化関連遺伝子

*を付したsulfite reductaseは、解析の結果nitrite reductaseとして機能することが示された。**は調節遺伝子(候補を含む)を示す。

核ゲノム	
CMG018C	nitrate transporter
CMG019C	nitrate reductase
CMG021C	*sulfite reductase (SirB)
CMI233C	glutamine synthetase
CMJ117C	sulfite reductase (SirA)
CMJ282C	**nitrogen transcription factor MYB1
CML239C	**putative glutamine sensor (GlnD)
CMT526C	ammonium transporter (AMT)
葉緑体ゲノム	
CMV060C	glutamate synthase (gltB)
CMV095C	**ycf28

[‡] 解説特集「光合成と藻類バイオテクノロジー」

^{*} 連絡先 E-mail: kntanaka@res.titech.ac.jp

(AMT) により細胞内に取り込まれ、グルタミン合成酵素 (GS) によりグルタミンに同化される。これまでに調べられている植物や真核藻類では、核に複数のGS遺伝子がコードされている。これら遺伝子がコードするGSのうち、細胞質に局在するものはGS1、色素体に局在するものはGS2と呼ばれ、それぞれ主に環境中から取り込んだ NH_4^+ の一次同化、および光呼吸により生じた NH_4^+ の再同化に関与すると考えられている¹⁵⁾。通常、GS2が単一の遺伝子にコードされるのに対して、GS1は複数の核遺伝子にアイソザイム群としてコードされている。一方、シゾンのゲノム配列には単一のGS遺伝子のみが見いだされたことから、植物の知見からシゾンのGS局在を予測することは難しい。そこで、このGSが細胞質、または葉緑体のどちらかにのみ局在するのか、あるいは細胞質と葉緑体に局在するのかを実験的に検証することにした。予測されるアミノ酸配列からは、N末端に葉緑体局在配列は見いだされず、細胞質への局在が予測される。実際、イネのGSタンパク質に対する抗体を用いた免疫蛍光顕微鏡観察では細胞質への局在が示唆された (図1)。さらに、細胞を破壊した上で密度勾配遠心

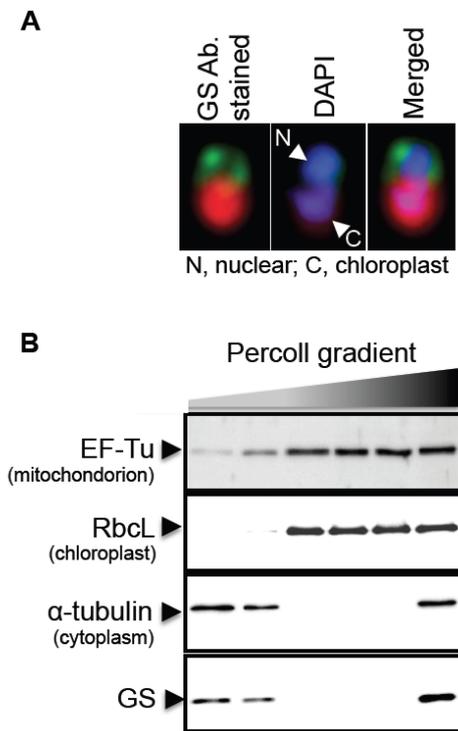


図1 GSの細胞内局在
(A)GS抗体を用いた免疫染色。(B)パーコール密度勾配遠心法によりオルガネラ分画したサンプルを用いたウェスタン解析。

法によりオルガネラを分画して解析した結果でも、GSは細胞質のマーカーであるチューブリンと共局在していた (図1)。これらの結果から、シゾンのGSは細胞質に存在することを結論した (図2)¹⁶⁾。シゾンは単細胞藻類であり、外界から取り込んだ NH_4^+ を同化して生育している。また、低 CO_2 条件では光呼吸関連遺伝子群の誘導が見られることから (兼崎ら、未発表データ)、シゾンにも光呼吸経路は存在し、従って、光呼吸により放出される NH_4^+ を再同化することも必要であろう。これらのGS機能が単一種のGSにより賄われていることは興味深い。

NH_4^+ は細胞質でグルタミンに同化された後、グルタミン酸合成酵素 (GOGAT) により γ -アミノ基が2-オキソグルタル酸 (2-OG) に転移されることでグルタミン酸を生じる¹⁷⁾。シゾンにおいてGOGATは葉緑体ゲノムにコードされるため、この酵素の局在は葉緑体内と考えられる。従って、GS-GOGATサイクルが機能するためには、グルタミンは細胞質から葉緑体内に輸送される必要がある。また、グルタミンと共にGOGATの基質となる2-OGはミトコンドリアのTCAサイクルで生成し、細胞質に出た後に葉緑体に輸送されていると考えられる (図2)。

3. NO_3^- 同化経路

シゾンは NO_3^- を唯一の窒素源として生育することができる。ゲノム情報から予測される NO_3^- 同化系の遺伝子には、硝酸還元酵素 (Nitrate Reductase: NR) とMFS (Major Facilitator Superfamily) 型の硝酸トランスポーター (Nitrate Transporter: NRT) があり、これらは核ゲノム上に隣り合ってコードされている。一

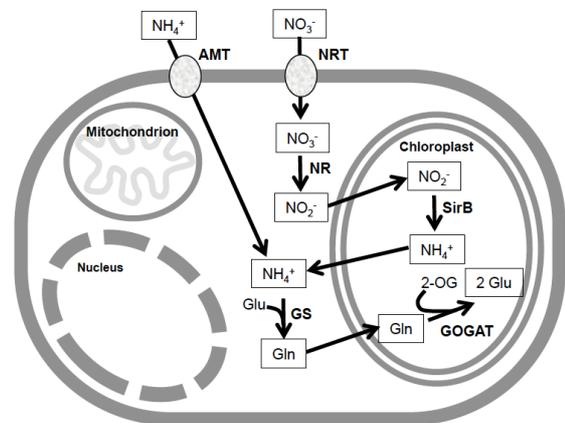


図2 シゾンにおける窒素同化経路のモデル図

般にNO₃⁻は、まずNRにより二電子還元を受けNO₂⁻（亜硝酸イオン）に還元され、さらに亜硝酸還元酵素（Nitrite Reductase: NiR）により六電子還元を受けてNH₄⁺となった後に、GSによりグルタミンに同化される¹⁷⁾。ところが驚いたことに、他の生物のNiR配列を用いた検索では、シゾンゲノムからNiRをコードする遺伝子を見いだすことができなかった。これは、シゾンがNO₃⁻を唯一の窒素源として生育できるという事実からは不思議であり、何らかの遺伝子産物がNO₂⁻の還元に関わっていることが推測された。さらに考察を進める中で、NiRと近縁な構造をもつ亜硫酸還元酵素（Sulfite Reductase: SiR）がシゾン核ゲノムに2種コードされており（SirAおよびSirB）、そのうちSirBがNR、NRTと近接する遺伝子にコードされることに気がついた（図3）。これらの遺伝子について、NH₄⁺、NO₃⁻をそれぞれ唯一の窒素源として培養した場合の発現を観察したところ、3遺伝子について同様にNO₃⁻培養時のみでの発現が観察された。一方、別のゲノム領域にコードされるSirAでは窒素源によらず、恒常的な発現が観察される（図3）。これらの結果は、シゾンにおいてSirAが亜硫酸の還元、SirBが亜硝酸の還元に関わる酵素であることを想像させる。この他、免疫蛍光顕微鏡法による観察により、SirA、SirBとも葉緑体内に局在するタンパク質であることも明らかになった¹¹⁾。アミノ酸配列に基づく局在予測により、硝酸の還元に関わるNRは細胞質への局在が想定される。従って、NRにより還元されたNO₂が葉緑体内に移行してNH₄⁺に還元され、これが再び細胞質に戻ってグルタミンに同化されることが予

測できる（図2）¹¹⁾。

SirB遺伝子産物がNiR活性をもつ可能性を更に検討するために、NiRを欠損したシアノバクテリア株を用いた遺伝的相補実験を行なうことにした。その結果、NiRをコードする*nirA*遺伝子を欠損したシアノバクテリア、*Leptolyngbya boryanum*株にシゾン*SirB*遺伝子を発現させると、NO₂⁻を唯一の窒素源とする培地において有意に増殖の相補が観察された¹¹⁾。これは*SirB*遺伝子産物が実際にNiR活性を持つことを意味している。さらに、東京大学のグループが精製タンパク質を用い、SirBがNO₂⁻に基質特異性をもつ還元酵素であることを生化学的に示しており¹⁸⁾、シゾンのSirBが細胞内でもNiR機能をもつことは確実だと考えられる。アミノ酸配列上、SirAとSirBは極めて近縁な酵素であり、これらの特異性がどのように進化してきたのかは、構造学的な考察を含め極めて興味深い問題である。シゾンがNO₃⁻を利用できるとはいえ、シゾン培養液中にNO₂⁻を添加すると細胞の白化が誘起される。これは、細胞内に入った毒性の高いNO₂⁻を速やかにNH₄⁺に還元できないためと考えられるが、これもNiRが急造なため、不十分な活性しか得られないためと考えれば納得できそうである。

最近、シゾンと同様の環境に生育する単細胞紅藻 *Galdieria sulphuraria* のゲノム配列が決定され、興味深い観察がなされている。*G. sulphuraria* はシゾン同様にNO₃⁻を唯一の窒素源として生育することができるが、この藻類のゲノム配列には典型的なNRをコードする遺伝子が見当たらない。一方、核ゲノム上でNRT構造遺伝子の近傍にはシゾンと異なり典型的なNiR遺

伝子が見つかり、さらに亜硫酸酸化酵素（Sulfite Oxidase: SO）に類似の酵素遺伝子が見いだされた。SOはモリブドプテリン結合ドメインをもつ酸化還元酵素であり、広い意味でNRとも同じファミリーに含まれていることから、*G. sulphuraria*ではこのSO様酵素がNRとして機能することが考えられている（A. Weber博士、私信）。このような *G.*

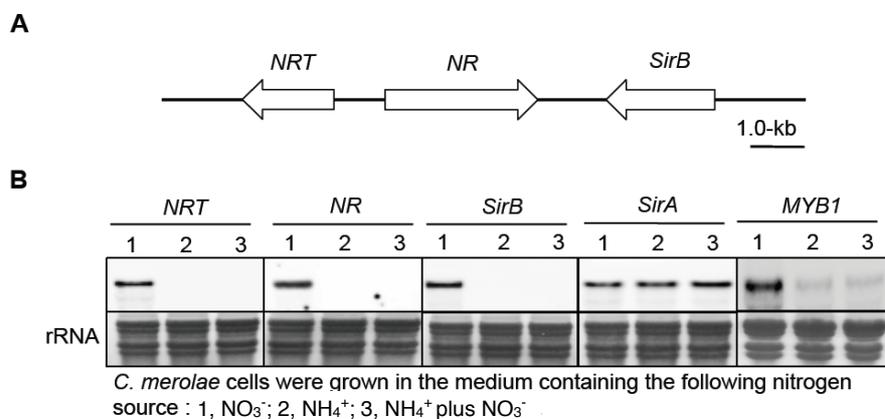


図3 硝酸同化遺伝子クラスターの構造と遺伝子産物量 (A)核ゲノム上における硝酸同化遺伝子クラスターの構造。(B)窒素源の変化による硝酸同化系遺伝子クラスター、SirA、MYB1の遺伝子産物量の変化。

sulphuraria における観察は、シズンにおける硝酸同化遺伝子の状況と比較すると二つの点で興味深い。まず、どちらの藻類も極めて重要な硝酸同化系酵素を欠き、これが二次的な進化により相補されているように見える点が挙げられる。これは硫酸酸性の温泉が極めて永続的であり、安定してNH₄⁺が供給されていたために、これらの藻類は硝酸同化遺伝子（シズンではNiR、*G. sulphuraria* ではNR）を独立に失った。その後、NO₃⁻を利用せざるを得ない状況に追い込まれ、シズンではSirB遺伝子の重複と変異により、*G. sulphuraria* では好熱菌からの遺伝子水平移動により硝酸同化性が回復したと考えると説明できるだろう。もう一つはNO₃⁻同化に関する遺伝子が、両株の核染色体上でクラスターを形成している点である。このような硝酸同化遺伝子のクラスタリングは緑藻や菌類でも観察されており、何らかのクロマチンレベルの制御を意味している可能性がある^{19,20}。

3. 核における窒素同化系遺伝子の転写調節

シズンにおけるNO₃⁻同化に関わる3遺伝子の転写は、利用する窒素源により同様の調節を受けているように見える。これは、これらの遺伝子が何らかの共通の転写調節系の制御下にあることによるものと考えられる。そこで、窒素同化系に関わる核転写調節因子の同定を試みることにした。真核細胞における窒素制御については、酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) における先行研究があり、Gln3と呼ばれるGATA型の転写因子が直接的な転写制御に関わることが知られている²¹。Gln3は窒素栄養の充足状態ではリン酸化されており、この状態を認識する結合タンパク質により細胞質に留められている。Gln3をリン酸化するのはTORキナーゼであるが、窒素欠乏によりTORが阻害されると、Gln3の脱リン酸化に伴いGln3が核内に移行し、制御下の遺伝子発現が活性化される図式が提唱されていた²²。しかしながら、動物ではそもそも無機窒素の同化を行わないので、同様の無機

窒素同化制御の想定自体ができない。また、植物や他の藻類でも先行研究が少なく、基本的な制御機構の推定は難しい状況であった。

我々はまず、酵母と同様の分子機構がシズンでも作動していることを想定し、核ゲノムにコードされる4種のGATA型転写因子が窒素制御に関わる可能性を検討した。しかし、これらの因子が窒素制御に直接関与する証拠は得られず、酵母系からの類推は難しいのではないかと考えられた。そこで、窒素飢餓条件にตอบสนองする転写因子をアレイ解析により抽出し、そこから転写因子を特定する戦略を取ることにした。そして、R2R3タイプのDNA

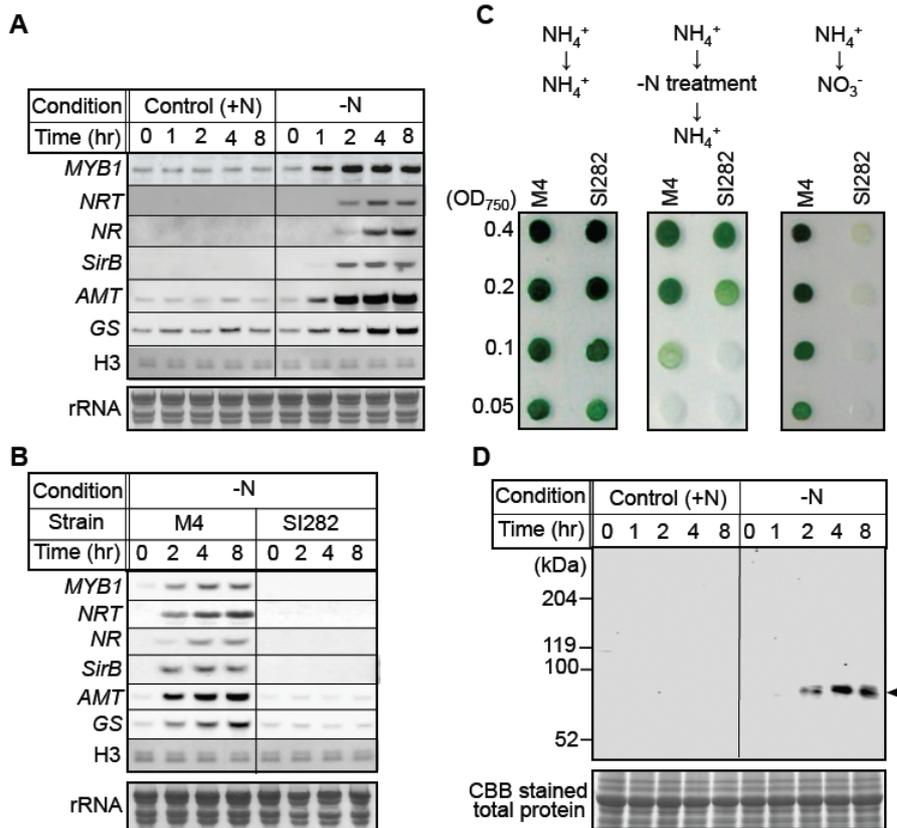


図4 窒素欠乏条件下におけるMYB1と窒素同化系遺伝子の発現(A)

窒素欠乏条件下におけるMYB1と窒素同化系遺伝子の転写産物量。H3は histone H3 遺伝子を示し、ローディングコントロールとして用いた。(B)SI282株 (MYB1遺伝子破壊株)とM4株 (SI282の親株)における窒素同化系遺伝子の転写産物量。(C)M4株とSI282株の窒素源の変化による生存能力。(D)窒素欠乏条件下におけるMYB1タンパク質量。

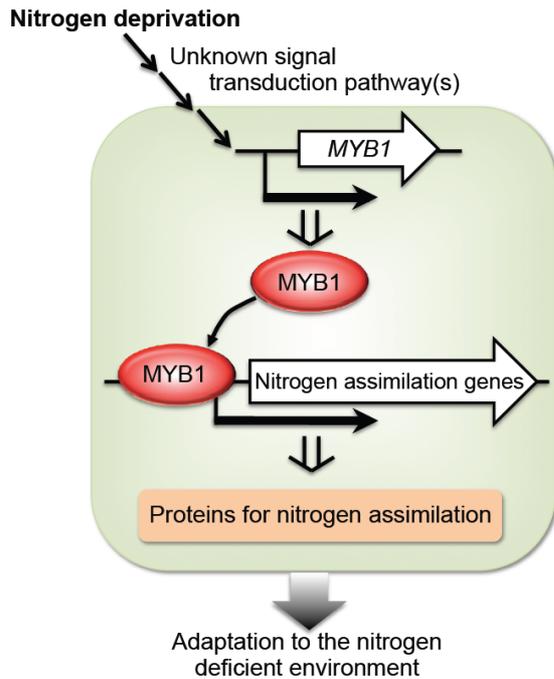


図5 MYB1を介した窒素欠乏応答機構のモデル図

結合ドメインをもつMYB型転写因子 (CMJ282C: MYB1) がmRNAレベル、タンパク質レベルの両方で窒素飢餓条件、または NO_3^- 培養条件で増加することを見いだした (図3、図4)。さらに、MYB1遺伝子の破壊により窒素欠乏時のNR、NRT、SirB遺伝子等の転写活性化が見られなくなったことから、MYB1をこれら遺伝子の転写活性化に関わる因子と同定した (図4、図5)。MYB1欠損株で窒素欠乏時の生存率が低下することも、MYB1遺伝子の生理的意義を示唆している (図4)。また、クロマチン免疫沈降法 (ChIP法) や電気泳動度シフト法 (EMSA法) などにより、MYB1がこれら遺伝子プロモーター領域に結合することも*in vivo*、*in vitro*で証明した²³⁾。 NH_4^+ を唯一の窒素源とした培養ではMYB1の量は非常に少ない。また、 NH_4^+ と NO_3^- を共存させた培地でも、MYB1量は NH_4^+ 培地と同様に低く抑えられている (図3)^{11,23)}。これは、 NH_4^+ が利用可能であれば、他の窒素源は利用しない窒素カタボライトリプレッションの仕組みが働いているものと考えられる。また、窒素欠乏時と NO_3^- 培養時での発現レベルに変化が見られないことから、 NO_3^- が特に認識されている訳ではなく、窒素の同化フローの低下のようなシグナルが、MYB1を介した転写活性化を引き起こしていることが想定された^{6,23)}。

5. 窒素制御の全体像と今後の課題

シゾン細胞核ではMYB1が転写因子として機能し、低窒素状態に応答した転写活性化を行なっている。しかし、どのようなシグナルやシグナル伝達系が、このような転写活性化に繋がっているのかは明らかではない (図5)。前述のように酵母では、直接に転写活性化に関わる転写因子はGln3であり、TORキナーゼによるGln3リン酸化が活性調節に重要であることが解明されている。この際、TORキナーゼ活性の阻害がGln3活性化に繋がるものの、どのようにTORキナーゼの活性調節がなされているかについては酵母においても余り理解されていない。

そもそも細胞は、窒素欠乏の状況をどのように感知しているのだろうか。細胞にとって窒素源が存在するのは外界の培地中であるが、これまでの研究から、微生物細胞は窒素源の細胞外濃度を感知しているのではなく、細胞内に取り込まれた窒素源や同化産物、同化反応により変動する代謝産物を検出することが明らかにされてきた。例えば大腸菌では、初期窒素同化産物であるグルタミン、および窒素同化反応に炭素骨格を供給する2-OGがそれぞれGlnD、PIIタンパク質によりモニターされ、2成分制御系を介して低窒素応答を誘導する^{17,24)}。一方、シアノバクテリアでは2-OGがPII、およびCRP型の転写調節因子であるNtcAに認識されることで、遺伝子発現が調節される^{25,26)}。バクテリアではこのように、窒素条件により直接に変動する代謝産物から転写活性化までの道筋が、比較的明確にされている。これに対して真核生物、特に植物や藻類では殆どこのような知見が得られていない。本稿で見てきたように、シゾンにおける窒素同化は、細胞質と葉緑体の間を代謝産物が往復しながら進められる複雑な過程である。この過程のうち、どのコンパートメントにあるどの代謝産物がシグナルとして働いているのか、センサーやシグナル伝達系を含めて殆どが不明のままである。シゾンを含む紅藻葉緑体のゲノムには、シアノバクテリアのNtcAに類似した転写因子Ycf28がコードされており、このYcf28が葉緑体における窒素欠乏センサーとなっている可能性があるが、具体的な証明はなされていない。さらに、細胞全体としての窒素シグナル伝達の理解については今後の研究を待たねばならない。

葉緑体は植物や藻類に固有のオルガネラであり、シアノバクテリアの内部共生に由来すると考えられて

いる。この葉緑体が窒素代謝の主要を担う以上、酵母などにおける従来の知見がそのまま適用できないのも当然といえるだろう。植物や藻類のもつ光合成能力、バイオマス生産能力の利用は今後の持続的な人間活動に極めて重要であり、その代謝機能の理解はその活用に必須である。窒素代謝は炭素代謝と共に、光合成生物の同化機能の要にあり、シゾンのようなシンプルなモデル系を用いた原理解明、そして複雑な植物系へのフィードバックという研究戦略が今後さらに必要になってくるものと考え、研究を進めている。

謝辞

本研究の遂行にあたり、シアノバクテリア亜硝酸還元酵素の欠損株、プラスミドをご提供いただいた名古屋大学・藤田祐一先生、*Galdieria*株のゲノム情報に関する私信をいただいたDusseldorf大学・Andreas Weber先生に深く感謝致します。

Received October 31, 2012, Accepted November 13, 2012,
Published December 31, 2012

参考文献

- Kuroiwa, T. (1998) The primitive red algae *Cyanidium caldarium* and *Cyanidioschyzon merolae* as model system for investigating the dividing apparatus of mitochondria and plastids, *Bioessays* 20, 344-354.
- Ohta, N., Matsuzaki, M., et al. (2003) Complete sequence and analysis of the plastid genome of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*, *DNA Res.* 10, 67-77.
- Ohta, N., Sato, N. and Kuroiwa, T. (1998) Structure and organization of the mitochondrial genome of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* deduced from the complete nucleotide sequence, *Nucleic Acids Res.* 26, 5190-5298.
- Matsuzaki, M., Misumi, O., et al. (2004) Genome sequence of the ultra small unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D, *Nature* 428, 653-657.
- Nozaki, H., Takano, H., et al. (2007) A 100%-complete sequence reveals unusually simple genomic features in the hot-spring red alga *Cyanidioschyzon merolae*, *BMC Biol.* 5, 28.
- Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Misumi, O., Yoshida, M., Ohnuma, M., Fujiwara, T., Yagisawa, F., Hirooka, S., Imoto, Y., Matsushita, K., Kawano, S. and Kuroiwa, T. (2010) Chloroplasts divide by contraction of a bundle of nanofilaments consisting of polyglucan, *Science* 329, 949-953.
- Misumi, O., Yoshida, Y., Nishida, K., Fujiwara, T., Sakajiri, T., Hirooka, S., Nishimura, Y. and Kuroiwa, T. (2008) Genome analysis and its significance in four unicellular algae, *Cyanidioschyzon merolae*, *Ostreococcus tauri*, *Chlamydomonas reinhardtii*, and *Thalassiosira pseudonana*, *J. Plant Res.* 121, 3-17.
- Nishida, K., Yagisawa, F., Kuroiwa, H., Yoshida, Y. and Kuroiwa, T. (2007) WD40 protein Mda1 is purified with Dnm1 and forms a dividing ring for mitochondria before Dnm1 in *Cyanidioschyzon merolae*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 4736-4741.
- Kobayashi, Y., Kanasaki, Y., Tanaka, A., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T. and Tanaka, K. (2009) Tetrapyrrole signal as a cell-cycle coordinator from organelle to nuclear DNA replication in plant cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 803-807.
- Kobayashi, Y., Imamura, S., Hanaoka, M. and Tanaka, K. (2011) A tetrapyrrole-regulated ubiquitin ligase controls algal nuclear DNA replication, *Nat. Cell Biol.* 13, 483-487.
- Imamura, S., Terashita, M., Ohnuma, M., Maruyama, S., Minoda, A., Weber, A. P., Inouye, T., Sekine, Y., Fujita, Y., Omata, T. and Tanaka, K. (2010) Nitrate assimilatory genes and their transcriptional regulation in a unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*: Genetic evidence for nitrite reduction by a sulfite reductase-like enzyme, *Plant Cell Physiol.* 51, 707-717.
- Ohnuma, M., Yokoyama, T., Inouye, T., Sekine, Y. and Tanaka, K. (2008) Polyethylene glycol (PEG)-mediated transient gene expression in a red alga, *Cyanidioschyzon merolae* 10D, *Plant Cell Physiol.* 49, 117-120.
- Ohnuma, M., Misumi, O., Fujiwara, T., Watanabe, S., Tanaka, K. and Kuroiwa, T. (2009) Transient gene suppression in a red alga, *Cyanidioschyzon merolae* 10D, *Protoplasma* 236, 107-112.
- Watanabe, S., Ohnuma, M., Sato, J., Yoshikawa, H. and Tanaka, K. (2011) Utility of a GFP reporter system in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*, *J. Gen. Appl. Microbiol.* 57, 69-72.
- Lam, H. M., Coschigano, K. T., Oliveira, I. C., Melo-Oliveira, R. and Coruzzi, G. M. (1996) The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47, 569-593.
- Terashita, M., Maruyama, S. and Tanaka, K. (2006) Cytoplasmic localization of the single glutamine synthetase in a unicellular red alga, *Cyanidioschyzon merolae* 10D, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70, 2313-2315.
- Merrick, M. J. and Edwards, R. A. (1995) Nitrogen control in bacteria, *Microbiol. Rev.* 59, 604-622.
- Sekine, K., Sakakibara, Y., Hase, T. and Sato, N. (2009) A novel variant of ferredoxin-dependent sulfite reductase having preferred substrate specificity for

- nitrite in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*, *Biochem. J.* 423, 91-98.
19. Quesada, A., Galvan, A., Schnell, R. A., Lefebvre, P. A. and Fernandez, E. (1993) Five nitrate assimilation-related loci are clustered in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Mol. Gen. Genet.* 240, 387-394.
 20. Slot, J. C. and Hibbett, D. S. (2007) Horizontal transfer of a nitrate assimilation gene cluster and ecological transitions in fungi: A phylogenetic study, *PLoS ONE* 2, e1097.
 21. Cooper, T. G. (2002) Transmitting the signal of excess nitrogen in *Saccharomyces cerevisiae* from the Tor proteins to the GATA factors: connecting the dots, *FEMS Microbiol. Rev.* 26, 223-238.
 22. Beck, T. and Hall, M. N. (1999) The TOR signalling pathway controls nuclear localization of nutrient-regulated transcription factors, *Nature* 402, 689-692.
 23. Imamura, S., Kanesaki, Y., Ohnuma, M., Inouye, T., Sekine, Y., Fujiwara, T., Kuroiwa, T. and Tanaka, K. (2009) R2R3-type MYB transcription factor, CmMYB1, is a central nitrogen assimilation regulator in *Cyanidioschyzon merolae*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 12548-12553.
 24. Arcondeguy, T. Jack, R. and Merrick, M. (2001) P_{II} signal transduction proteins, pivotal players in microbial nitrogen control, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 65, 80-105.
 25. Osanai, T. and Tanaka, K. (2007) Keeping in touch with PII: PII-interacting proteins in unicellular cyanobacteria, *Plant Cell Physiol.* 48, 908-914.
 26. Ohashi, Y., Shi, W., Takatani, N., Aichi, M., Maeda, S., Watanabe, S., Yoshikawa, H. and Omata, T. (2012) Regulation of nitrate assimilation in cyanobacteria, *J. Exp. Bot.* 62, 1411-1424.

Nitrogen assimilatory pathway and the regulation in a unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*

Kan Tanaka* and Sousuke Imamura

Chemical Resources Laboratory, Tokyo Institute of Technology