

## RITE共同研究概要

### 苛酷環境生育藍藻の苛酷環境適応遺伝子の探索

### Screening of the genes responding to crucial environments in the stress-tolerant cyanobacteria

大森正之

Masayuki Ohmori

埼玉大学 理学部分子生物学科

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Science,  
Saitama University

#### Abstract

Genes for desiccation tolerance in a cyanobacterium, *Anabaena* sp. strain PCC 7120, were screened using DNA microarray. It was found that the genes for trehalose synthesis, and trehalose hydrolysis were expressed markedly by desiccation stress. The amount of trehalose accumulated during dehydration was small, while a large amount of sucrose was accumulated. Disruption of genes for trehalose synthesis resulted in a decrease of cellular trehalose level and cell viability during dehydration. It was concluded that genes for trehalase metabolism were very important for the desiccation tolerance of this cyanobacterium.

**Key Words:** Trehalose metabolism, Desiccation tolerance, Cyanobacteria, DNA microarray

#### 概要

乾燥性を持つ陸生ラン藻は、土壌改善に貢献する重要な役割を持つ生物として注目を集めつつあるが、ラン藻の乾燥耐性メカニズムは未解明な部分が多い。乾燥耐性ラン藻においては、乾燥ストレスにより、トレハロース合成酵素遺伝子 (all0168, all0167)、分解酵素遺伝子(all0166)がオペロンとして誘導されることが既に示されている。トレハロースは近年、ストレス耐性物質あるいはシグナル伝達物質として広く注目されている非還元性の二糖である。そこで我々は乾燥ストレス耐性におけるトレハロースの役割について研究した。

本研究では、*Anabaena* sp. PCC 7120 で乾燥ストレスにより発現が誘導されることが明らかになっているtrehalose 合成酵素遺伝子 $mth$ ,  $mts$ 、trehalose 加水分解酵素遺伝子 $treh1$ について分子生物学的に解析を進めた。Northern 解析の結果、これら3つの遺伝子はオペロンを構成していることが明らかになった。現在の所、これらがオペロン ないしクラスターを形成している例

は*Anabaena* sp. strain PCC 7120 やその近縁種にしか見られず、乾燥耐性能を持つこれら生物においてこれら遺伝子群が独自の役割を果たすことが期待された。

そこで、*mtH* や *trEH* の破壊株を作製し、解析を進めた。*Anabaena* 野性株とこれら遺伝子破壊株でtrehalose 合成、分解酵素活性を測定した。その結果、実際に*mts*や *mtH* がtrehalose 合成酵素遺伝子、*trEH* がtrehalose 加水分解酵素遺伝子として機能していることが確認された。乾燥ストレス下の野性株では少量のtrehalose と多量のsucroseの蓄積が見られた。野性株とTRM11(*mtH*::)、TRM31(*trEH*::) の乾燥ストレス時のtrehalose やsucrose の蓄積量、また生存率を測定した。その結果、少量蓄積したtrehalose と生存率との間に相関が見られ、*Anabaena* sp. PCC 7120 の乾燥耐性能に少量のtrehalose が寄与していることが示唆された。trehalose が少量でも乾燥耐性に寄与しているので、trehalose が何らかのsignal伝達に関わっている可能性も示唆された。そこで野性株、TRM11(*mtH*::)、TRM31(*trEH*::) それぞれにおいて乾燥ストレス条件下でのDNAマイクロアレイ解析を進めた。その結果、細胞内trehalose 濃度に線形的に比例して遺伝子発現量変化を示した遺伝子は存在しなかったものの、遺伝子発現量が乾燥耐性能と正に相関している*al10641* (hypothetical protein) や*alr2445* (*grpE*; Dnak cofactor) を同定することができ、これら2つの遺伝子が*Anabaena* sp. PCC 7120 の乾燥耐性能獲得に何らかの役割を果たしていることが示唆された。

trehalose がsignal 伝達物質であるかどうかを考える上で、*Anabaena* sp. strain PCC 7120 で機能する細胞内二次情報伝達物質として代表的なcAMPとの違いを考察する必要もあるであろう。cAMP は外部の刺激に対して瞬間的な濃度の上昇を示し、signal伝達を行う。これに対して乾燥ストレスにより変化したtrehalose 濃度は、trehalose代謝酵素遺伝子群の転写、翻訳を介しており、かなりゆっくりした上昇を示している。また、野性株では乾燥初期よりも湿重量が変化を示さなくなっている9時間以降における方がtrehalose 蓄積量の上昇ペースが速い。このtrehalose 含量の上昇パターンは、*in vivo* におけるtrehalose 合成、分解酵素活性の調節の結果であるのか、また、実際に酵素活性が調節されているとすればどのような刺激に対して応答しているのか明らかにしていく必要があるだろう。この課題は、trehalose 代謝酵素遺伝子群がなぜオペロンを構成しているのかということと合わせて今後の重要な課題となる。また、trehalose 代謝酵素遺伝子群は、乾燥ストレスにより遺伝子発現が誘導されるだけでなく、低温ストレスや塩ストレスによっても発現が誘導されるとの知見もある。これらの条件下では共通のストレスがかかるのか、またこれらのストレスに対してtrehalose ないしtrehalose 代謝酵素遺伝子群クラスターが共通の役割を果たしているのかということも今後の研究課題であろう。

〒338-8570 埼玉県桜区下大久保255、Email: ohmori@molbiol.saitama-u.ac.jp