

プロジェクト名：シアノバクテリアの炭素・窒素代謝マスター転写因子 CyAbrB の機能解析

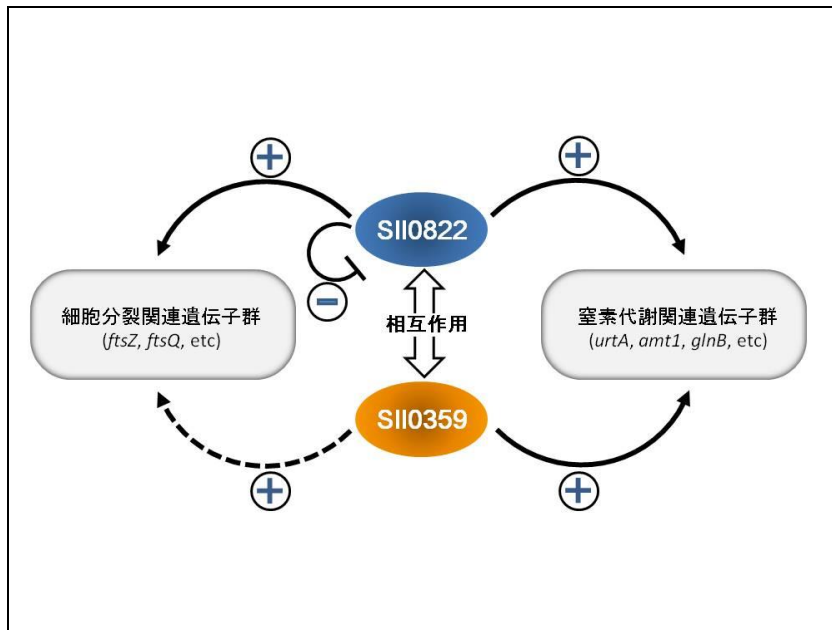
プロジェクト代表者：氏 名 理工学研究科・日原由香子

シアノバクテリアは、その光合成能により、現在の地球の大気組成を創成・維持すると共に、従属栄養生物に栄養を提供し、地球生態系を支えてきた光合成原核生物である。これまでに申請者は、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 株において、転写因子 SII0822 の欠損株では細胞内グリコーゲン蓄積量が野生株に比べて 2 倍となり、細胞体積は 5 倍以上に肥大することを見出した。予備的な解析の結果、この転写因子は炭素・窒素代謝の包括的制御に関わっており、この制御の欠損により窒素の取り込みが減少し、細胞内の相対的な炭素量が増えた結果、欠損株での細胞内炭素蓄積が促進されることが明らかとなった。既知のシアノバクテリアはいずれの種も SII0822 様の転写因子(CyAbrB と命名)を保持しており、CyAbrB 転写因子の機能解析が進めば、様々なシアノバクテリア種について細胞内代謝を自由に制御する系の確立に結びつくと期待される。

そこで本研究では、まず *Synechocystis* sp. PCC 6803 株の 2 つの CyAbrB (SII0822、SII0359) に関して、過剰発現株を作製して表現型解析を進めた。さらに、窒素固定能を持つ *Anabaena* sp. PCC 7120 についても CyAbrB 欠損株を作製し、これらのシアノバクテリア種における CyAbrB の機能解明と代謝制御技術の確立を目指すことを目的とした。

#### 1 *Synechocystis* sp. PCC 6803 株の 2 つの CyAbrB (SII0822、SII0359) 過剰発現株の表現型解析

*Synechocystis* sp. PCC 6803 株の 2 つの CyAbrB 転写因子(SII0822、SII0359)それぞれを、恒常的に高活性を示す *psbA2* プロモーターの支配下で、野生株および sII0822 破壊株バックグラウンドにて発現させた。その結果、野生株バックグラウンドの発現株では特筆すべき表現型は観察されなかったが、sII0822 破壊株バックグラウンドでの発現株では、いくつかの新知見が得られた。① これまでに、sII0822 破壊株では窒素代謝関連遺伝子群の発現レベルが著しく低いことが観察されていたが、それに加えて、*ftsZ* や *ftsQ* 等の細胞分裂関連遺伝子の発現レベルも低いことが、今回新たに見出された。② 増殖遅延、光合成色素量の低下、窒素関連遺伝子・細胞分裂関連遺伝子の発現レベル減少、グリコーゲン高蓄積、細胞サイズ増大などの sII0822 破壊株の表現型は、SII0822 を破壊株内で発現させることにより相補された。また、SII0359 を破壊株内で発現させることにより、部分的な相補が観察された。③ His-タグ付の CyAbrB を破壊株内で発現させ、ニッケルアフィニティーカラムにより精製すると、His-SII0822 と SII0359、および His-SII0359 と SII0822 の共精製が観察された。これらの結果より、*Synechocystis* sp. PCC 6803 株の 2 つの CyAbrB 転写因子は、細胞内で相互作用し、窒素代謝関連遺伝子群、および細胞分裂関連遺伝子群の発現活性化に関与していることが明らかになった (下図)。



現在、この研究成果をまとめ、*Journal of Bacteriology* 誌に投稿中である。

## 2 *Anabaena* sp. PCC 7120 株の2つの CyAbrB (All2080、Alr0946) 破壊株の作製

窒素固定能を有する糸状性シアノバクテリア *Anabaena* sp. PCC 7120 は、*Synechocystis* sp. PCC 6803 株の2つの CyAbrB である SII0822、SII0359 に相当する転写因子として、それぞれ All2080、Alr0946 を保持している。*Anabaena* sp. PCC 7120 は、栄養条件の変化に応答して、窒素固定に特化した細胞ヘテロシストを形成するが、このヘテロシスト形成に CyAbrB がどのように関与しているのかを明らかにするため、all2080、alr0946 遺伝子破壊コンストラクトを作製中である。また、当研究室では *Anabaena* sp. PCC 7120 株を実験材料に用いるのは初めてであったため、培養条件、ノーザン解析、ウェスタン解析など、実験条件の検討を行った。その結果、*Anabaena* sp. PCC 7120 株において、通常条件下、窒素欠乏条件下において、All2080、Alr0946 の両者を、転写産物レベル、タンパク質レベルで検出することができた。次年度以降、作製した遺伝子破壊株を用いて、様々な表現型解析を行うと同時に、DNA マイクロアレイ解析を行い、All2080、Alr0946 の標的遺伝子を同定する予定である。