
※研究グループ

明治大学 農学部農芸化学科

環境バイオテクノロジー研究室

専任講師 小山内 崇 (おさない たかし)

学部3年生 有坂 聡美 (ありさか さとみ)

学部3年生 竹屋 壮浩 (たけや まさひろ)

共同研究員 飯嶋 寛子 (いいじま ひろこ)

理化学研究所 環境資源科学研究センター

代謝システム研究チーム

チームリーダー 平井 優美 (ひらい まさみ)

テクニカルスタッフ 桑原 亜由子 (くわはら あゆこ)

1. 背景

光合成は、細菌、藻類、植物などが行う重要な化学反応です。光合成を行うことで、水を分解して酸素を発生し、光エネルギーを化学エネルギーに変換します。得られたエネルギーを用いて、二酸化炭素を原料として糖を合成します。光合成で生み出された糖は、地球上の生命を支える栄養となります。このことから、光合成のメカニズムを理解し、将来的に制御できるようにすることは、生物学、生物工学において最も重要なテーマの1つと言えるかもしれません。

研究グループは、光合成を行う細菌であるラン藻を用いて、光合成と代謝の研究を進めています。ラン藻は、植物と同じ酸素を発生する光合成を行います。淡水、海水、土壌、温泉など、あらゆる環境下で生息していることが知られています。研究グループは、世界中で広く研究されているシネコシスティス[2]という淡水性のラン藻を用いて研究を行いました。

今回の研究では、ヒスチジンキナーゼに着目しました。ヒスチジンキナーゼは、細菌に広く保存される情報を伝達する役割を持つタンパク質です。シネコシスティスは、約40個のヒスチジンキナーゼを持ち、それぞれが枠割分担をして、細胞内外の情報の連絡に働いていると考えられています。このうち、Hik8というヒスチジンキナーゼを研究しました。Hik8は、細胞の概日リズムや光シグナルを伝達する因子であると考えられています。概日リズムや光の条件は光合成や代謝と密接な関係があるため、研究グループは、Hik8が情報伝達を通して光合成や代謝を制御しているという仮説を立て、実験により検証を行いました。

2. 研究手法と成果

研究グループは、Hik8 の遺伝子改変を行いました。Hik8 の遺伝子に、細胞内で強い活性を持つプロモーター[3]を融合させ、シネコシステイス細胞内で Hik8 タンパク質量を増やした株を作製しました。この株を Hik8 過剰発現株と名付け、解析を行いました。

はじめに、Hik8 過剰発現株の光合成・呼吸活性を測定しました。光合成活性は酸素の発生量、呼吸活性は酸素の吸収量で測定できます。この測定には酸素電極という機器を用います (図 1)。今回の実験では、通常培養条件に加え、光合成生物の有用物質生産に重要な窒素欠乏条件での測定も行いました。Hik8 過剰発現株の光合成・呼吸活性を測定した結果、光合成活性が特に窒素欠乏後に対照株の半分以下になり、反対に呼吸活性は 1 割ほど増加することが分かりました (図 2)。この解析から、Hik8 過剰発現株では、光合成・呼吸の電子伝達の活性が変化している可能性が示唆されました。蛍光量を測定する解析によって、Hik8 過剰発現株では光合成電子伝達全体の流れが滞っていることが分かりました。

次に、光合成電子伝達に関わる遺伝子の転写産物量[3]を測定しました。その結果、Hik8 過剰発現株では、調べた光合成遺伝子のほとんどで、転写産物量が対照株よりも多いことが分かりました。光合成で重要な「光化学系 II」と呼ばれるタンパク質複合体の遺伝子群の発現が、Hik8 過剰発現で 1.5~2 倍に増加しました (図 3)。光化学系 II のその他の遺伝子群や、他の光合成電子伝達に参与する重要な遺伝子群の転写産物量も増加しました。

次に、Hik8 過剰発現株の代謝の状態を調べました。光合成と代謝は密接な関係にあります。両者の間をつなぐ情報伝達のメカニズムには、未知の点が多く残されています。研究グループが、Hik8 過剰発現株のアミノ酸の量を調べたところ、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、フェニルアラニンなど、数種類のアミノ酸が、窒素欠乏条件下で対照株よりも少ないことが分かりました。また、過去に研究グループは、Hik8 が光条件に応じて、糖やアミノ酸の代謝を制御することを明らかにしています。これらの結果から、Hik8 には、窒素栄養や光などの様々な情報が集まり、これらを集積して光合成や代謝を制御している可能性が示されました (図 4)

3. 今後の期待

今回の研究では、情報伝達タンパク質である Hik8 を改変することで、光合成、呼吸、代謝という細胞の重要な機能を同時に変化させることができました。たった 1 つの遺伝子を改変するだけで、このような変化を起こさせることができるため、光合成と代謝の情報伝達メカニズムの理解や光合成・代謝の制御に役立つと考えられます。このような研究を積み重ねていくことで、基礎研究として光合成生物の理解に役立つだけでなく、将来的な細胞の改変、有用物質の生産に役立つことが期待されます。

4. 論文情報

<タイトル>

Modification of photosynthetic electron transport and amino acid levels by overexpression of a circadian-related histidine kinase *hik8* in *Synechocystis* sp. PCC 6803

<著者名>

Ayuko Kuwahara*, Satomi Arisaka*, Masahiro Takeya*, Hiroko Iijima, Masami Yokota Hirai, Takashi Osanai (*同等貢献)

<雑誌>

Frontiers in Microbiology

<DOI>

doi: 10.3389/fmicb.2015.01150

5. 補足説明

[1] ヒスチジンキナーゼ

ストレスや細胞内外の変化の情報を伝達するタンパク質。環境変化によって、リン酸化され、下流のレスポンスレギュレーターというタンパク質にリン酸をリレーしていくことで情報を伝達していく。

[2] シネコシスティス

最も広く利用されている淡水性、単細胞性のラン藻。増殖が速く、直径が約 1.5 マイクロメートルの球形をしている。窒素固定を行わない。1996年に、生物の中では4番目、ラン藻種の中では最初に全ゲノム配列が決定された。相同組換えによる遺伝子の改変が可能であり、凍結保存が可能であるなどの利点を有することから、光合成研究のモデル生物として広く研究されている。

[3] プロモーター

遺伝子の upstream に位置し、遺伝子の転写 (DNA から RNA を合成すること) のオン・オフを制御する領域。合成された RNA を転写産物と呼ぶ。

6. 発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせ下さい

明治大学 農学部農芸化学科 環境バイオテクノロジー研究室
専任講師 小山内 崇 (おさない たかし)

TEL : 044-934-7103 FAX : 044-934-7103

<機関窓口>

明治大学 経営企画部 広報課

TEL : 03-3296-4330 FAX : 03-3296-4087 E-mail : koho@mics.meiji.ac.jp

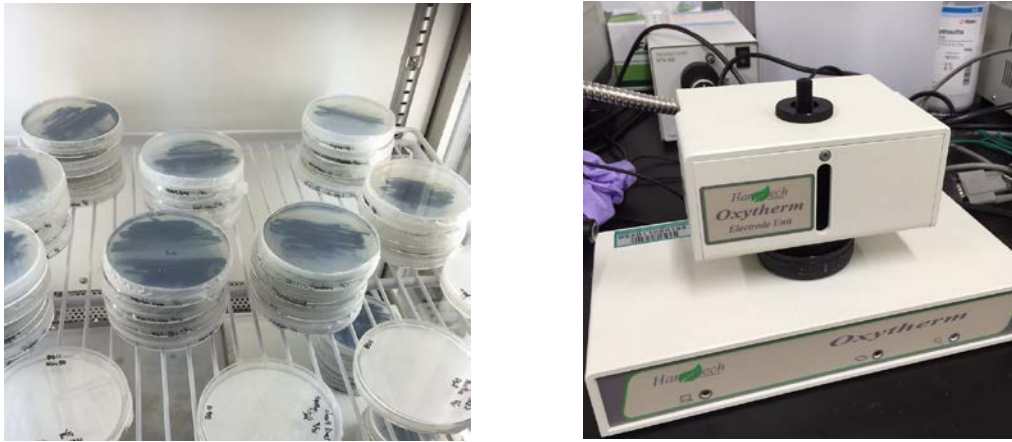


図1 ラン藻シネコシスティスと酸素電極

ラン藻シネコシスティスは、合成培地を用いて固体培地（左図）または液体培地で光を照射しながら培養する。酸素の発生量・吸収量は、酸素電極という機器で測定する（右図）。

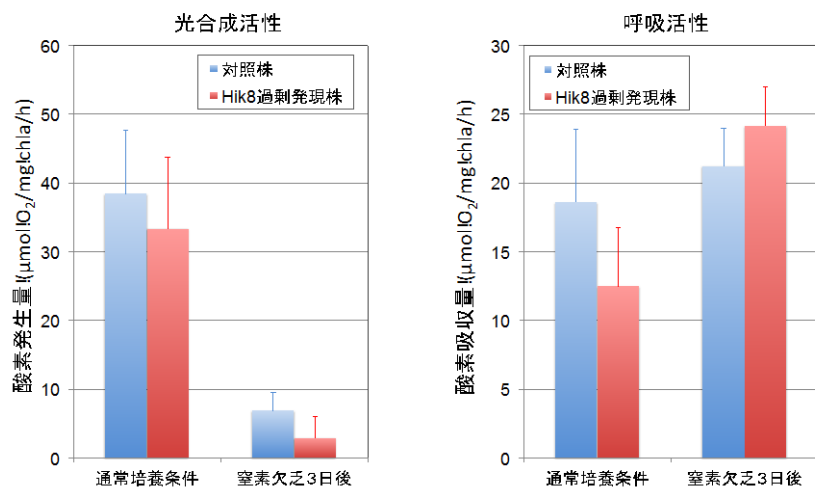


図2 光合成・呼吸活性

左図は光合成活性（発生した酸素量）、右図は呼吸活性（吸収した酸素量）を表す。青色が対照株、赤色が Hik8 過剰発現株。光合成活性は窒素欠乏時に減少し、Hik8 過剰発現株では、対照株の半分になる。呼吸活性は対照株では窒素欠乏時にやや増加する程度であるが、Hik8 過剰発現株では2倍になった。

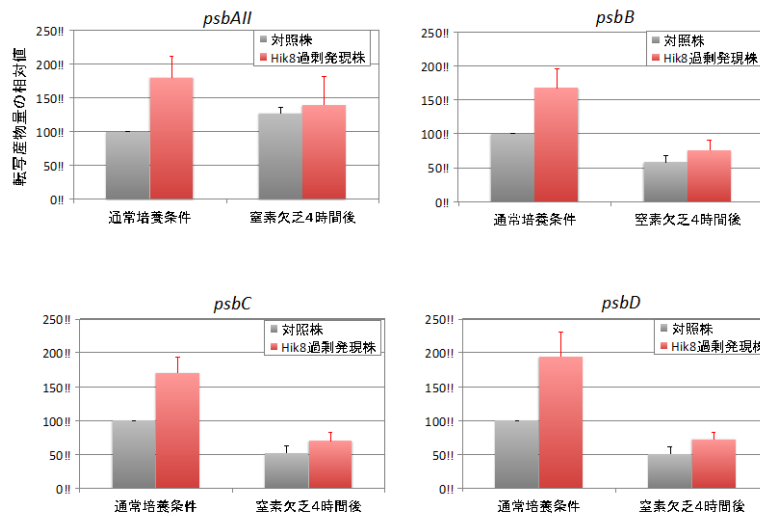


図3 光合成遺伝子の転写産物量

光化学系II複合体で重要な4つのタンパク質の遺伝子発現を通常培養条件と窒素欠乏4時間後に調べた。灰色が対照株、赤色がHik8過剰発現株。Hik8過剰発現株では、通常培養条件で、転写産物量が1.5~2倍に増加した。

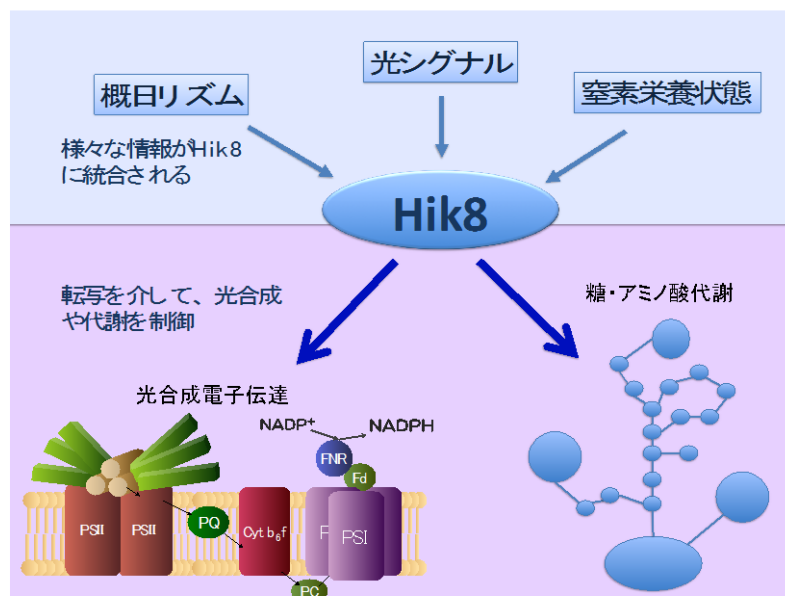


図4 Hik8による情報伝達のモデル図

Hik8には、概日リズム、光シグナル、窒素栄養状態など、様々な情報が入力されると考えられる。この情報をもとに、Hik8は、光合成や糖・アミノ酸の代謝を制御すると考えられる。