

## 光合成微生物シアノバクテリアの新規の環境ストレス 順応応答の発見～限りあるリン資源を有効活用する 持続的な物質生産への応用に期待

この度、東京薬科大学 生命科学部 環境応用植物学研究室 佐藤典裕准教授らの研究グループは、シアノバクテリアにおいて主要栄養素であるリンの欠乏ストレス下、リンの利用効率が向上する新規のストレス順応応答を明らかにしました。さらにポリリン酸の合成酵素遺伝子がポリリン酸量だけでなく、それ以上に細胞の全リン含量、つまり、リンの利用効率の決定に重要であることを見出しました。以上の結果は、光合成生物を利用した持続的な物質生産への応用が期待されます。この成果は 2024 年 1 月 29 日、次いで 2024 年 7 月 31 日に共に *Frontiers in Plant Science* 誌に掲載されました。

### 【ポイント】

- シアノバクテリアで主要栄養素リンの欠乏下、rRNA がより重要なリン化合物へ変換され、それによりリンの利用効率が向上する順応応答を発見しました。
- ポリリン酸 (polyP) 合成酵素遺伝子 (*ppk1*) の破壊により、シアノバクテリアの細胞では polyP とそれ以上に全リン量が低下し、リン利用効率が向上することを発見しました。
- ppk1* のはたらきにより、硫黄欠乏下、シアノバクテリアの細胞では polyP とそれ以上に全リン量が増加すること、つまり、リンの蓄積能が増強することを発見しました。
- 本研究の発見は、光合成微生物を用いた有用物質生産時のリン投与量制限、そして農作物栽培を見据えた排水からのリン回収・資源化、つまり持続可能な物質生産へ応用可能です。

### 【概要】

東京薬科大学生命科学部 環境応用植物学研究室 佐藤典裕准教授らはシアノバクテリアの一種、*Synechocystis* sp. PCC 6803 において、リン欠乏下での細胞生育中に rRNA が分解され、それにより遊離するリンが必須リン脂質等のリン化合物へと代謝変換される過程を発見しました。これは細胞のリン含量の低下をもたらす、つまりリン利用効率を高め

る新規のリン欠乏順応応答です。一方、*Synechocystis*ではポリリン酸合成酵素遺伝子（*ppk1*）が細胞の polyP 量だけでなく、全リン量の決定に関わることを発見しました。栄養十分条件下、*ppk1*の破壊により細胞では polyP 以上に全リン量が大幅に低下し、リン利用効率が顕著に高まりました。この場合、細胞の生育能は損傷しませんでした。硫黄欠乏下、野生株の細胞では polyP が、そしてそれ以上に全リン量が大きく増加しました。つまり、リンの細胞内への取り込み・蓄積能が顕著に増強しましたが、これは主に *ppk1*のはたらきによりました。さらに、この *ppk1*のはたらきは細胞の硫黄欠乏順応に重要でした。本研究により *Synechocystis*等の有用な光合成微生物にリン利用効率を向上させ、培養時のリンの投与量を制限する、またはリン取り込み能を向上させ、排水からリンを回収・資源化し、農作物栽培に利用する道が開かれます。つまり、リン資源が世界で枯渇しつつある中、その効率的活用に基づく、持続可能な物質生産系の開発へと応用可能です。

## 【研究の背景】

リン（P）は遺伝情報をもつ核酸やエネルギー通貨である ATP 等、重要な生体物質の構成元素です。光合成微生物はリン酸塩等、安価な無機塩を栄養源とし、かつバイオマス生産性が高いため、経済的な有用物質生産への利用が期待されます。しかし、リン酸塩の原料となるリン鉱石は採石が進み、近い将来、枯渇すると予測されます。このため、光合成微生物の持続可能な産業利用には P 資源の効率的な活用が必要です。光合成生物では P 欠乏（-P）条件下、生体内で P 化合物が必要度の低いものから高いものへと作り変えられ、それにより生育が維持されます。これは生育に必要な生体の P 量（P quota）の低下、即ち P の利用効率（PUE）の向上をもたらします。一方、光合成微生物は硫黄（S）欠乏等の栄養ストレス下、リン酸の重合体であるポリリン酸（polyP）を大量に蓄積するため、その polyP 蓄積をリンの回収・資源化へ利用する研究がなされています。遺伝子操作が容易な単細胞シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 では、有用物質生産のための遺伝子改変研究が盛んです。私たちは PUE や外界 P の細胞内取り込み・蓄積能の増強を目標として *Synechocystis*の野生株やポリリン酸合成酵素である polyP kinase 1 の遺伝子（*ppk1*）の欠損変異株（ $\Delta ppk1$ ）について、環境ストレスへの応答を研究しました。

## 【発表論文】

1. Hiyoshi T, Haga M, Sato N\*. (2024) Preferential phosphatidylglycerol synthesis via phosphorus supply through rRNA degradation in the cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC 6803, under phosphate-starved conditions. *Front Plant Sci.* 15:1335085.

2. Sato N\*, Endo M, Nishi H, Fujiwara S, Tsuzuki M. (2024) Polyphosphate-kinase-1 dependent polyphosphate hyperaccumulation for acclimation to nutrient loss in the cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC 6803. Front Plant Sci. 15:1441626.

(\*は責任著者)

### 【研究内容と成果 1】

論文1では、*Synechocystis*を用いた解析により、-P条件下、主要P化合物である核酸のうち、DNAではなくRNAが、そして特にrRNAが分解されること、逆に必須リン脂質の phosphatidylglycerol (PG) 等、他のP化合物の量が増加することが見出されました (図1)。

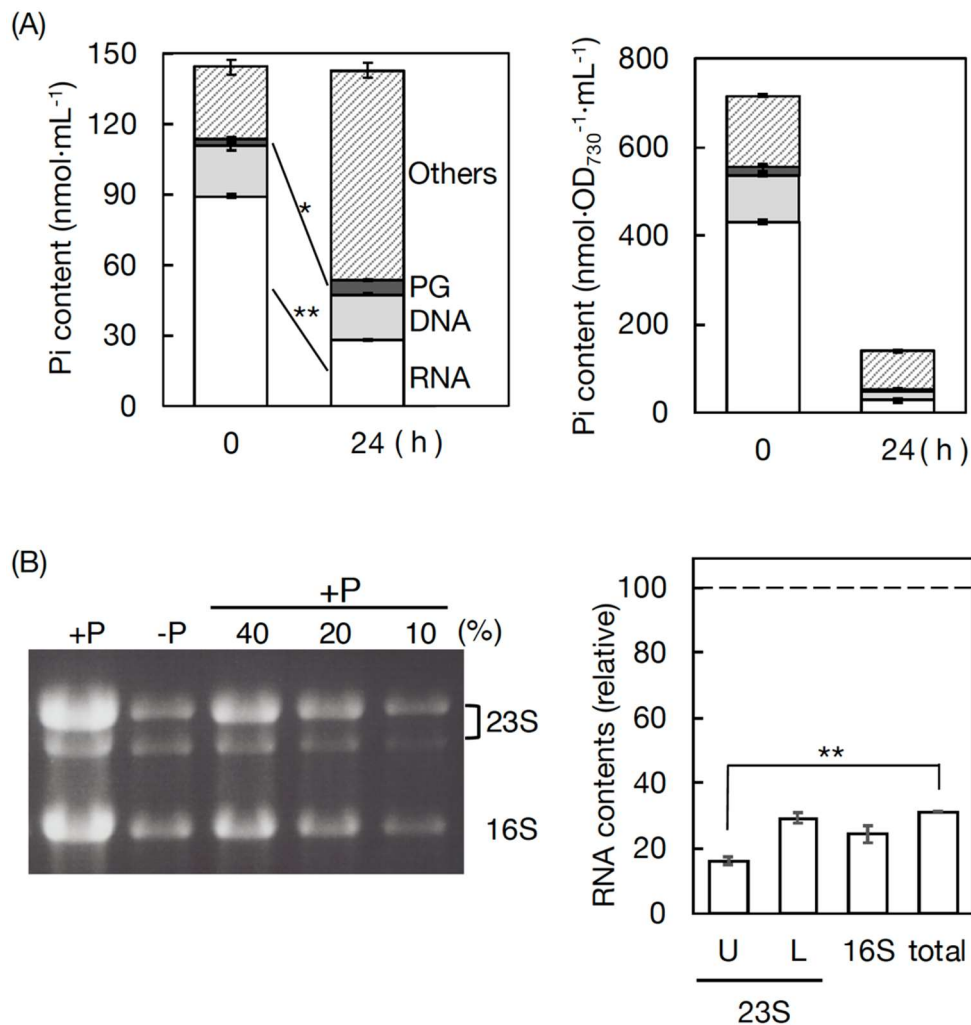


図1 -P 下での P 化合物間における P の再分配. (A)+P 条件 (-P 移行前, 0 h) と -P 条件 (移行後 24 h) 下, 各 P 化合物の量 (P 量ベース). 左パネル, 培養液のバッチあたり.

右パネル，細胞あたり．(B) -P 下での rRNA 分解．左パネル，全 RNA のアガロースゲル電気泳動．右パネル，各種 rRNA の量．

PG は光合成生物にとって必須の脂質です．-P 条件下，PG の合成系遺伝子は発現誘導されており，これが優先的な PG 合成を支えたと解釈されます（図 2）．rRNA の分解は細胞の生育速度の低下に対応した，余剰となったリボソームの分解を反映し，また，それにより遊離したリン酸は PG 等，他の P 化合物の合成に用いられたのでしょうか．これは光合成生物で新規に見出された PUE 向上のための応答です．

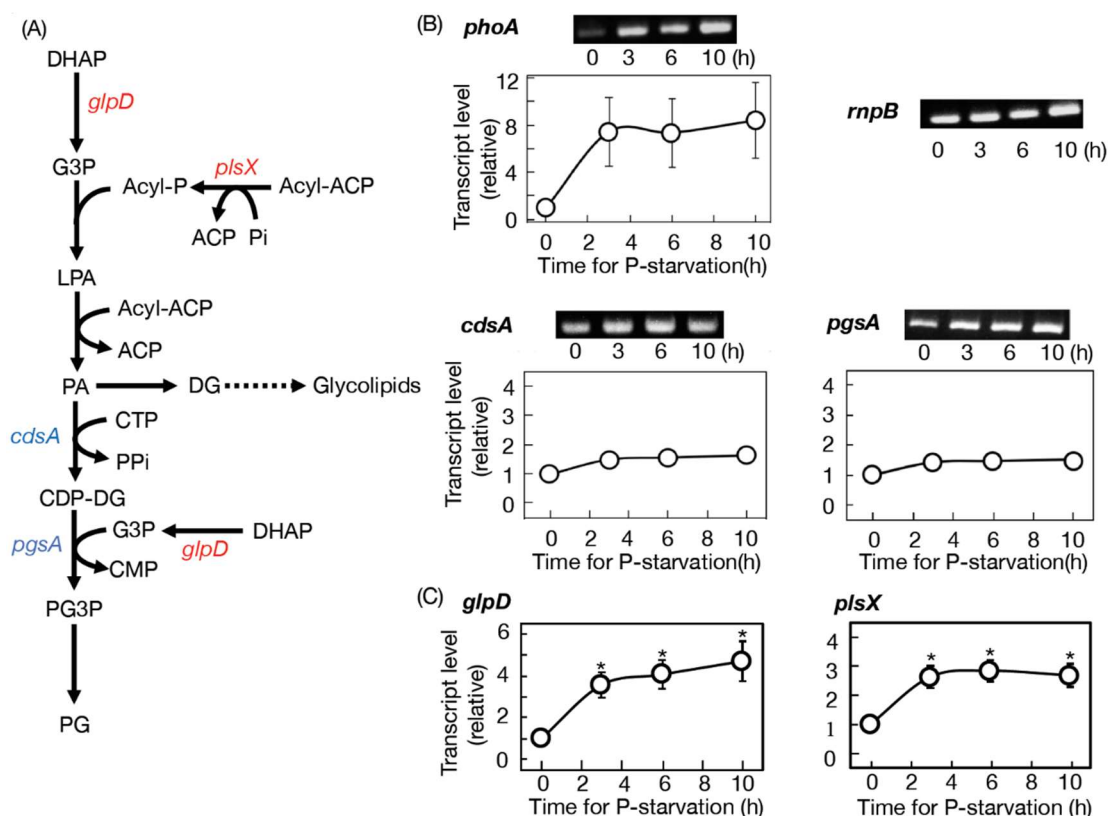


図 2 -P 条件下，PG 合成系を構成する *glpD* や *plsX* の発現誘導

## 【研究内容と成果 2】

論文 2 では *Synechocystis* の  $\Delta ppk1$  を作製・解析しました．通常の硫黄十分 (+S) の生育条件下，あるいは polyP が大量に蓄積する硫黄欠乏 (-S) 下のいずれでも， $\Delta ppk1$  は野生株 (WT) に比べ，polyP 量の大幅な減少が認められました．したがって，polyP 合成は主に *ppk1* が担うことが示されました（図 3A-D）．興味深いことに， $\Delta ppk1$  では細胞の

全 P 量が WT の 46% に低下すること、即ち、PUE の向上が見出されました (図 3A) . 一方、-S 下、WT では細胞の全 P 量が +S 下の 5 倍に増加しましたが、その増加量は polyP の蓄積量を大きく上回りました。これに対し、-S 下、 $\Delta ppk1$  では細胞の全 P 量は低いままでした。これらの結果は、WT では -S 下、外界 P の細胞内への取り込み能が増強し、その大部分は polyP 以外の P 化合物の蓄積に利用されること、そしてその増強に *ppk1* が必要であることを示しています。

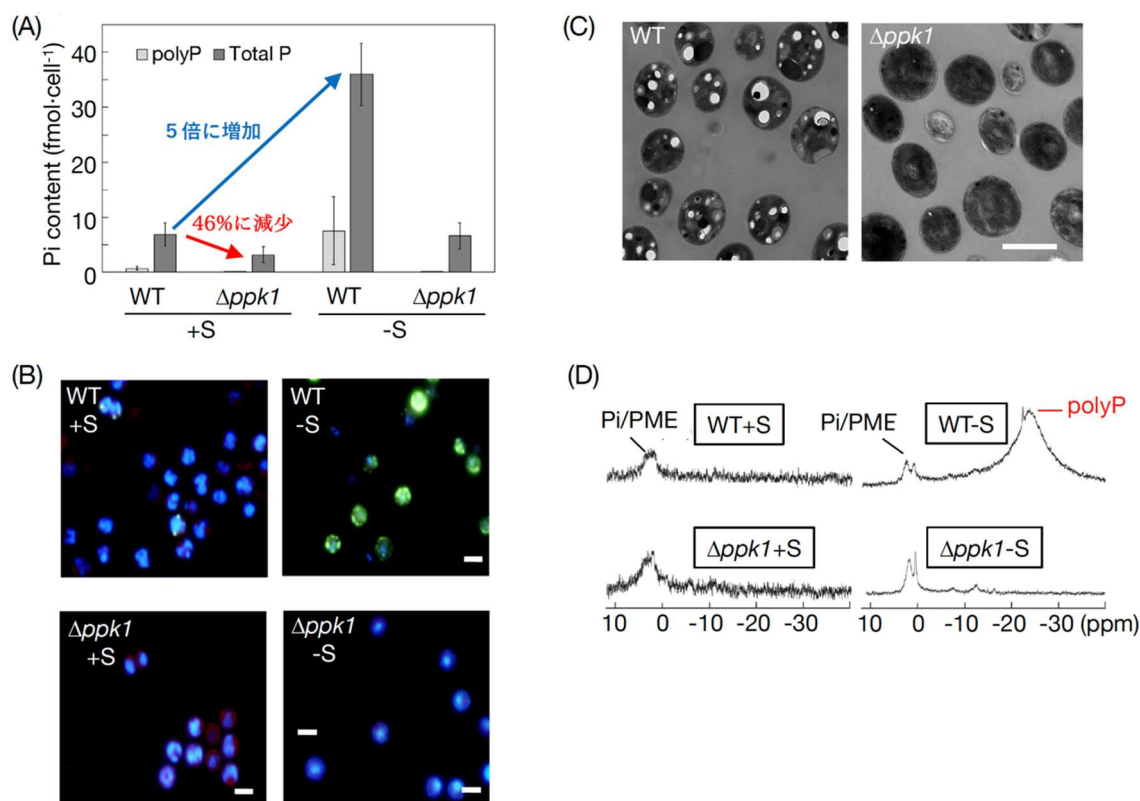


図 3 *Synechocystis* における *ppk1* の生化学的機能. (A)+S 下、あるいは-S 下、*sll0290* 破壊が全 P と polyP の各量に及ぼす影響. 蛍光顕微鏡法 (B) , 電子顕微鏡法 (C) による polyP 顆粒の観察. (D)in vivo <sup>31</sup>P NMR 法による可溶性 polyP の検出.

$\Delta ppk1$  は WT と同等の生育と光合成能を示しました (図 4A, B) . つまり、 $\Delta ppk1$  では PUE が高まると同時にバイオマス生産能が維持されることが明らかとなりました。しかし、栄養が枯渇し静止期に入ると、あるいは-S 条件下では  $\Delta ppk1$  は WT に比べて生育の回復能が低下しました (図 4A 挿入図, 図 4C) . 特に静置培養時、-S 条件は  $\Delta ppk1$  の細胞死を強く誘導しました (図 4D) . したがって、*Synechocystis* において polyP、そして細胞の全 P の量的決定に関わる *ppk1* は通常条件下では必要とされないが、-S 等の栄養欠乏ストレスへの順応には重要であると明らかになりました。

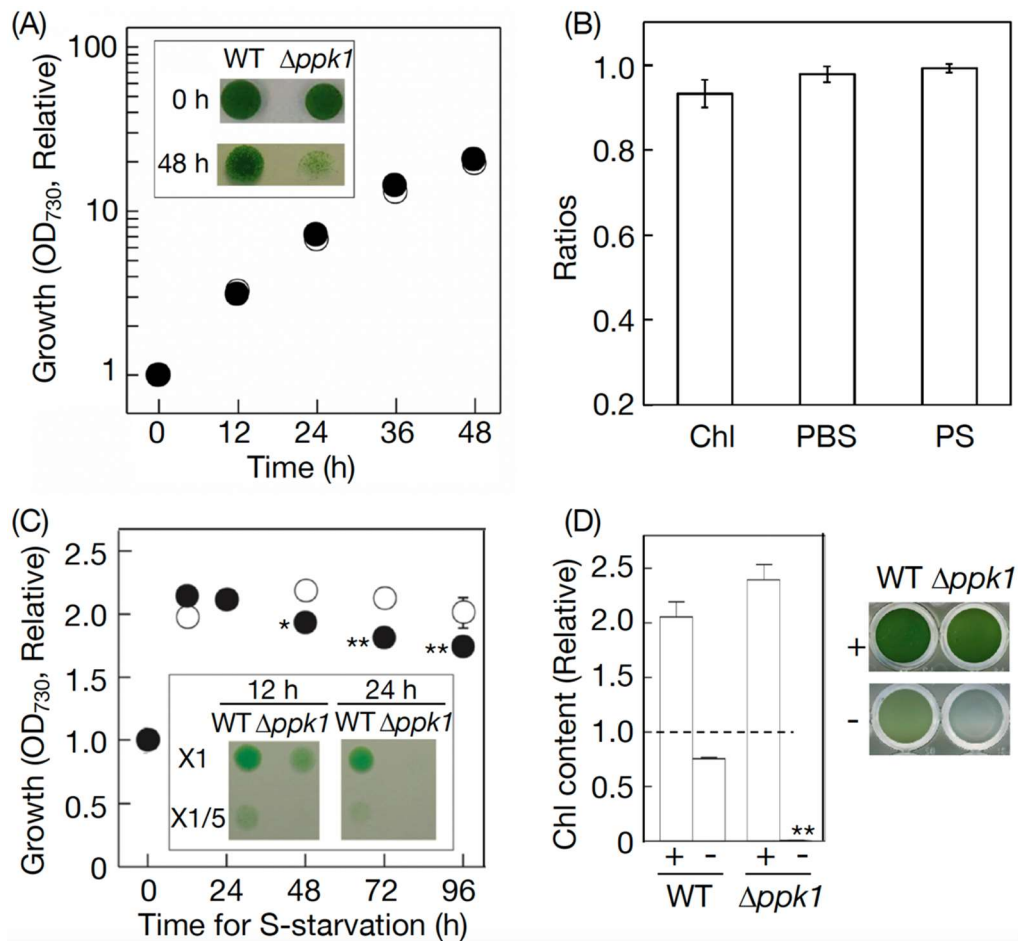


図4 *Synechocystis* における *ppk1* の生理学的役割. (A)通気培養時，通常条件下での細胞生育とその後の回復（挿入図）. (B)  $\Delta ppk1$  のクロロフィル量（Chl），フィコビリソーム量（PBS），光合成（PS）. 各値はWTに対する比を示す. (C) 通気培養時，-S 下での細胞生育とその後の回復（挿入図）. (D) 静置培養時，+S，-S 下での細胞生育.

極限環境の好熱性シアノバクテリア *Synechococcus* OS-B' では *Synechocystis* と異なり， $\Delta ppk1$  が生育に 5% の高  $\text{CO}_2$  要求性を示し，polyP が低  $\text{CO}_2$  ストレスへの順応に必須です. ところで *ppk* 遺伝子には *ppk1* 以外に *ppk2* があります. 全 277 種のシアノバクテリアのゲノムデータベースの検索により，7 種で *ppk1* と *ppk2* の両者が不在と認められました（表 1）. そのうちの 3 種は珪藻等，他生物の内部に共生するため，外界の環境ストレスを受けにくいと考えられました. これらの観察から，シアノバクテリアではその多様化の過程で，生息する場の環境ストレスの程度に応じて polyP の役割に差が生じた可能性が示されました. 即ち，環境ストレスの度合いが強いとストレス耐性獲得のための polyP の役割が広がり，逆に弱いとその役割が縮小したのかもしれません.



表 1 *ppk1*と*ppk2*の両者をもたないシアノバクテリア

*Candidatus Synechococcus spongiarum* LMB bulk15N \*

*Cyanobacterium stanieri* PCC 7202

*Nostoc piscinale* CENA21

*Richelia intracellularis* HH01 \*

*Richelia intracellularis* HM01 \*

*Synechococcus elongatus* PCC 11801

*Synechococcus sp.* GFB01

\* 共生型のシアノバクテリア.

### 【本研究の意義と今後の展望】

今後、P 欠乏下の *Synechocystis* の WT において、そして特に通常条件下の  $\Delta ppk1$  において PUE が高まる機構を分子レベルで解明したいと考えています。併せて、-S 条件下の *Synechocystis* において、P 蓄積能の増強やストレス耐性獲得における *ppk1* の役割を解析します。これらの研究から得られる知見を基に、*Synechocystis*、ひいては他の有用な光合成微生物において、PUE あるいは P 蓄積能を高度に向上させ、それが P 資源の効率的活用をベースとする持続的な物質生産へ応用できるよう目指します。

### 【用語解説】

シアノバクテリア：葉緑体の祖先とされる、酸素発生型の光合成を行う原核生物。  
リン利用効率（PUE）：光合成生物が生育のために外界からリンを吸収・利用する効率。  
ポリリン酸（polyP）：3 から数百のリン酸基が直鎖状に連なった重合体。

### 【研究に関するお問い合わせ先】

東京薬科大学 生命科学部 環境応用植物学研究室 准教授 佐藤典裕

TEL:042-676-6716 mail:[nsato@toyaku.ac.jp](mailto:nsato@toyaku.ac.jp)

### 【取材に関するお問い合わせ先】

東京薬科大学 入試・広報センター 広報担当

TEL:042-676-4921 mail:[kouhouka@toyaku.ac.jp](mailto:kouhouka@toyaku.ac.jp)