

*Nostoc punctiforme* のスキトネミン合成の制御に関する研究

森岡 諒 (筑波大学 生物学類)

指導教員：鈴木石根 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

ほとんどすべての生物にとって過剰な太陽光、特に UV などの短波長の光は有害な環境因子である。このような光を吸収し、細胞を保護するサンスクリーン物質を生産することは、重要な光防御機構として知られている。

糸状性藍藻の一部が合成するスキトネミンは、UV-A の波長領域を主に吸収する (吸収極大は 370 nm)。日焼け止めクリームなどに使われる物質の多くは、UV-A より

も波長が短い UV-B に吸収極大があり、UV-A を吸収する物質は肌への刺激が強いためあまり使われていない。なので、藻由来の新しい紫外線吸収材としてスキトネミンが注目されている。

*Nostoc punctiforme* ではスキトネミンの生合成は UV に照射によって促進され、細胞外の多糖層に蓄積されることが分かっている。近年、UV 以外の窒素飢餓、酸化ストレス、乾燥、温度などの環境ストレスによってもスキトネミンの蓄積が誘導とされることがわかってきた。

*N. punctiforme* のゲノム解析により、スキトネミン合成遺伝子クラスター (Npun\_R1260 - R1276) が特定された。また、その上流域にシグナル伝達系の二成分制御系の遺伝子群 (Npun\_F1277 - F1278) が発見され、これらがスキトネミンの生合成の制御をしていることが示唆された。一方で、この二成分制御系が実際に何を感知し、どのように働いているのかは、明らかにされていない。本研究は、スキトネミン関連ヒスチジンキナーゼ Npun\_F1277 の機能、すなわち実際に検知するシグナルを明らかにすることを目的とした。

【方法】

1. キメラセンサーによる活性測定

*N. punctiforme* のヒスチジンキナーゼ Npun\_F1277 のセンサードメインと *Synechocystis* PCC6803 のリン酸欠乏センサーである Hik7 のシグナル伝達ドメインを融合させたキメラセンサーを作製し、Hik7 の欠失させた  $\Delta$ SphS 株で異種発現させた。このキメラセンサーの Npun\_F1277 由来のセンサードメインが特定

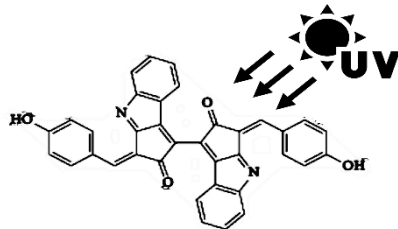


図 1：スキトネミンの分子構造式

の環境因子によって活性化されると、Hik7 のキナーゼドメインが活性化されリン酸転位を介してアルカリフォスファターゼ活性 (以下 AP) を誘導する。したがって、特定の環境因子に対する AP 活性を測定することで、Npun\_F1277 のセンサードメインの機能を探ることができる。

*Synechocystis* の野生型と Hik7 を完全に欠失した  $\Delta$ SphS 株、Hik7 のセンサー領域の一部を欠失し恒常的に活性型な  $\Delta$ PAS 株、そしてキメラセンサーを持つ n1277\_Hik7c 株に、異なる光条件、酸化ストレス、窒素飢餓などを与え AP 活性を測定した。

2. GFP レポーターアッセイ

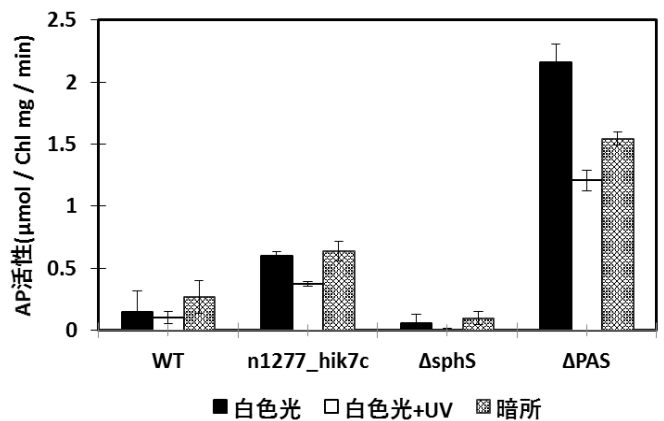
*N. punctiforme* の二成分制御系 (Npun\_F1277 - F1278) とスキトネミン合成遺伝子クラスターの上流域を GFP の上流に In-Fusion により組み込んだプラスミドを大腸菌で異種発現させ、さまざまな環境因子に対する GFP レポーターの活性測定を行った。

【結果】

1. キメラセンサーによる活性測定

異なる光条件 (白色光、白色光+UV、暗所)、酸化ストレスの有無、窒素欠乏の環境ストレス下で *Synechocystis* を培養し AP 活性の変化を測定したが、n1277\_hik7c 株の AP 活性に有意差は認められなかった

AP活性の測定 (培養 16 時間)



2. GFP レポーターアッセイ

プラスミドの作成を終え、現在測定中である。本発表には間に合わせたい。

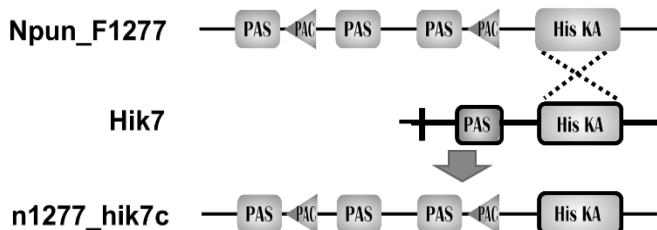


図 2：キメラセンサー n1277\_hik7c 遺伝子のコンストラクト