

Title	網羅的遺伝子発現解析を用いたシアノバクテリアの強光耐性機構に関する研究
Author(s)	小川, 健一
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/76658
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (小川 健一)

論文題名

網羅的遺伝子発現解析を用いたシアノバクテリアの強光耐性機構に関する研究

論文内容の要旨

シアノバクテリアは植物が生育できない海域などで増殖することや、単位面積あたりの生産性が高いことから、化合物の生産宿主として注目される。しかしシアノバクテリアは、強い光強度によって細胞が損傷する光阻害によって、日中などは生産性が低下するという課題を有する。細胞に光阻害への耐性を付与すれば、光強度が強い環境でも高い物質生産性が可能となり、通年での生産性を向上させることができる。本研究は、シアノバクテリアの一種である *Synechocystis* sp. PCC 6803 (以後PCC 6803と記載) に光阻害への耐性を付与する手法を開発した。

1章は、本研究の背景と目的について述べた。

2章は、これまで明らかとなっていない、増殖が阻害される強光条件でのシアノバクテリアの応答を初めて解析した。フォトバイオリアクターを用いたPCC 6803の培養試験の結果、PCC 6803の光合成能力に対し光強度が不足する弱光条件、十分である中光条件、増殖速度が低下するほど過剰な強光条件の3条件存在すること示した。各条件で培養した細胞を遺伝子発現解析に供した結果、弱光条件から中光条件で確認されていた応答が、強光条件においてより強い応答として示されることが明らかとなった。さらに強光条件特有の応答として、鞭毛の合成に関わる遺伝子やトランスヒドロゲナーゼやシグマファクター (*sigA*、*sigF*) の発現量低下が明らかとなった。

3章は、植え継ぎ培養を用いて、初めて弱光条件で増殖速度を低下しない強光耐性株を構築し、その耐性機構を解析した。試験管を用いた強光条件下での植え継ぎ培養の結果、野生株が増殖できない強光条件においても増殖速度が低下しない強光耐性株を獲得した。耐性株を網羅的遺伝子発現解析に供した結果、耐性株は吸光に重要な役割を果たす“Phycobilisome”に関わる遺伝子の発現量が低下していることが示された。さらに耐性株は、*isiA*の発現量が著しく増加することで複合体“HLCC”を形成し、“Photosystem II”へのエネルギー伝達量が低減や酸化ストレス抑制に寄与していることが示唆された。3章で示された耐性株の強光耐性機構と2章で示された野生株の強光応答機構を比較し、耐性株特有の機構を抽出した結果、野生株において *isiA*を過剰発現させれば、強光耐性を付与できる可能性が高いことが示された。

4章は、*isiA*過剰発現株を構築し培養試験に供した結果、*isiA*を過剰発現させることにより弱光条件で増殖速度を低下させずに、強光条件で増殖速度を大きく改善できることを明らかにした。

5章は、本研究の結果をまとめ、今後の展望について述べた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (小川健一)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	清水 浩
	副 査	教授	松田 秀雄
	副 査	教授	若宮 直紀
	副 査	教授	松田 史生
	副 査	教授	前田 太郎

論文審査の結果の要旨

シアノバクテリアは有用化合物の生産のための光合成生物宿主として注目されている。シアノバクテリアの利用にあたっては、強い光強度によって細胞増殖が低下する光阻害によって、生産性が低下するという課題がある。光阻害への耐性を有するシアノバクテリア株を構築することができれば、強い光強度の環境下でも高い物質生産性が可能となると考えられる。本研究では、シアノバクテリアの一種である *Synechocystis* sp. PCC 6803 (以後PCC 6803と記述) の遺伝子発現の解析を行って光阻害への耐性を付与する手法を開発している。

1章は、本研究の背景と目的、および、本論文の構成が述べられている。

2章は、増殖が阻害される強光条件でのシアノバクテリアの応答を解析している。フォトバイオリクターを用いたPCC 6803の培養実験の結果、PCC 6803の光合成能力に対し光強度が不足する弱光条件、十分である中光条件、増殖速度が低下するほど過剰な強光条件の3条件存在すること示している。各条件で培養した細胞を遺伝子発現解析に供した結果、弱光条件から中光条件で確認されている応答が、強光条件においてより強い応答として示されることを明らかにしている。さらに強光条件特有の応答として、鞭毛の合成に関わる遺伝子やトランスヒドロゲナーゼ遺伝子やシグマファクター (*sigA*、*sigF*) の発現量の低下を見出している。

3章は、植え継ぎ培養を用いて強光耐性株を構築し、その耐性機構を解析している。試験管を用いた強光条件下での植え継ぎ培養を行って、野生株が増殖できない強光条件においても増殖速度が低下しない強光耐性株を獲得している。耐性株の遺伝子発現解析を行った結果、耐性株は光捕集に重要な役割を果たすフィコビリソームに関わる遺伝子の発現量が低下していることを示している。さらに、耐性株は、*isiA*の発現量が著しく増加することから、この遺伝子が関与する光化学系IIへのエネルギー伝達量の低減や酸化ストレス抑制について考察している。3章で示された耐性株の遺伝子発現と2章で示された野生株の強光応答遺伝子発現を比較し、野生株において *isiA* を過剰発現させることにより、強光耐性を付与できる可能性があることを提案している。

4章は、3章で提案した *isiA* 過剰発現株を実際に構築し、培養試験を行って、*isiA* を過剰発現させることにより弱光条件で増殖速度を低下させずに、強光条件で増殖速度を大きく改善できることを明らかにしている。

5章は、本研究の結果をまとめ、今後の展望について述べている。

以上のように、本研究は、シアノバクテリアPCC6803の異なる強度の光条件における遺伝子発現解析、植え継ぎ培養において獲得された強光耐性を示す株の遺伝子発現解析を行って強光耐性を付与するために、*isiA* 過剰発現が有効であることを提案し、その有効性の実証を行っており、工学的、情報科学的に価値ある成果が得られている。よって、本論文は、博士(情報科学)の学位論文として価値あるものと認める。