



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	パートナースイッチングシステムの30年 : シアノバクテリア研究者の観点から
Author(s)	日原, 由香子; Hihara, Yukako
Citation	低温科学, 83, 119-133
Issue Date	2025-03-29
DOI	https://doi.org/10.14943/lowtemsci.83.119
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/94812
Type	departmental bulletin paper
File Information	12_p119-133_LT83.pdf



パートナースイッチングシステムの30年 —シアノバクテリア研究者の観点から—

日原 由香子¹⁾

2024年12月24日受付, 2025年1月6日受理

パートナースイッチングシステム (PSS) は、セリンキナーゼ (アンチシグマ因子)、アンタゴニスト、およびPP2C型ホスファターゼの3者から成る調節系であり、様々な細菌が、ストレス応答、細胞分化、運動性、病原性の獲得など、多様な細胞機能の制御に利用している。本稿では、筆者の博士論文における推定セリンキナーゼPmgAの同定と、当時、枯草菌で進められていたPSSの分子機構の解明に始まり、多様なPSSの発見を経て、シアノバクテリアのPSSが光合成や炭素同化、糖異化などの代謝制御に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある現在までの研究史を、シアノバクテリア研究者の観点から概説する。

30 years of partner switching systems – From the perspective of a cyanobacterial researcher –

Yukako Hihara¹

The partner switching system (PSS) is a tripartite regulatory system consisting of a serine kinase (an anti-sigma factor), an antagonist and a PP2C-type phosphatase. PSS has been widespread among bacterial species to regulate diverse cellular functions such as stress response, cell differentiation, motility and pathogenesis. In this paper, the research history of PSS is described from the perspective of a cyanobacterial researcher, starting with the identification of the putative serine kinase PmgA in cyanobacteria during the author's PhD study, together with the early PSS studies in *Bacillus subtilis*, and continuing through to the notion that PSSs play an important role in metabolic control to balance photosynthetic electron transport, carbon assimilation and sugar catabolism in cyanobacteria.

キーワード：アンチシグマ因子、シアノバクテリア、環境応答、パートナースイッチングシステム、PmgA
anti-sigma factor, cyanobacteria, environmental adaptation, partner switching system, PmgA

1. *Synechocystis* sp. PCC 6803における PmgAの同定

1.1 PmgAの同定と研究室小進化

1995年に、東大駒場の池内研究室で博士課程の研究を

スタートさせた筆者は、淡水性・単細胞性のモデルシアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 (以下S.6803) のグルコース耐性野生株を変異原処理して、強光感受性になった株の原因遺伝子を同定することで、強光順化の分子機構を明らかにしたいと考えた。しかし変異原処理を繰り返

連絡先
日原 由香子
埼玉大学大学院理工学研究科
〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255
Tel: 048-858-3396
Email: hihara@mail.saitama-u.ac.jp

1) 埼玉大学大学院理工学研究科
Graduate School of Science and Engineering, Saitama
University, Saitama, Japan

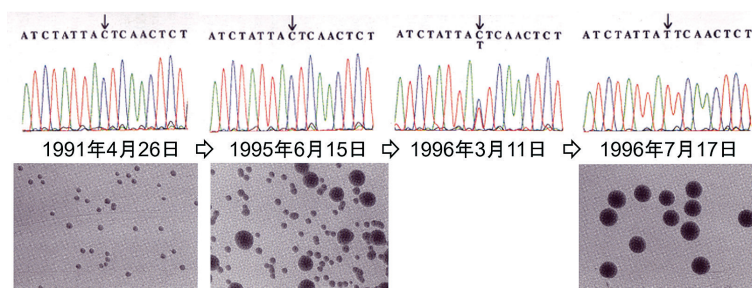


図1: *Synechocystis* sp. PCC 6803の研究室内小進化

池内研究室で当時培養していた野生株における*pmgA*コーディング領域のダイレクトシーケンス結果と光独立栄養条件下で形成されるコロニーの様子。909390番塩基を矢印で示した。Hihara and Ikeuchi (1997) Photosynth Res. Fig.4を改変。

返しても、期待どおりの強光感受性株は一向に得られず、10月になってしまったある日、野生株が光独立条件下の培養プレート上で形成するコロニーサイズに大小があることに気づいた(図1)。大小コロニーを別々に培養してみたところ、大コロニー由来の株は光独立栄養条件下では良く増殖するが、培地にグルコースを加えた光混合栄養条件下で致死となることが分かった。大小コロニーの遺伝的差異を明らかにするために、グルコース入りのプレート上で培養した大コロニー由来株に野生株のゲノムライブラリーを滴下して、致死性を相補するゲノム領域を絞り込んでいくと、大コロニー由来株では、S.6803ゲノムにおける909390番シトシンがチミンに変異した結果として、機能未知ORFである*sll1968*の35番ロイシン(Nakamura et al. 2024に従い、ORF開始位置を909492番とした場合)がフェニルアラニンに置換していることがわかった。*sll1968*の遺伝子破壊株も、L35F変異株と同様、光混合栄養条件下で致死となったことから、筆者らはこの遺伝子を*pmgA* (photomixotrophic growth related protein A) と名付けた(Hihara and Ikeuchi 1997)。

野生株コロニーに大小があることに気づいた時点で、研究室で培養していた野生株中に*pmgA*のL35F変異がすでに広がっていたわけであるが、一体、この変異はいつ出現してどのように広がっていったのだろうか？凍結保存株や培養中の株からゲノムDNAを単離して*pmgA*コーディング領域のダイレクトシーケンスを行うと、1991年に凍結保存されていた株の909390番塩基は100%がシトシンで、全て小コロニーを形成した(図1)。筆者が研究を開始して間もない1995年6月時点の株のシーケンス結果は100%シトシンだったが1割ほどが大コロニーを形成した。1996年3月の株ではシーケンス結果で40%ほどチミンのピークが

検出され、1996年7月の株はチミン100%で全てが大コロニーを形成した。このことから、*pmgA*は光条件や栄養条件が様々に変動する自然界で生き抜くために必要な遺伝子であるが、恒常的な光独立栄養・弱光条件下で植え継ぎを繰り返す実験室環境では、野生株より速く増殖できる*pmgA*のL35F変異株が、出現して1年少しの間に野生株を駆逐してしまったと考えられる。その後、次世代シーケンサーによって全ゲノム塩基配列を容易に決定できる時代が到来し、各研究室で維持しているS.6803野生株のゲノム塩基配列に、様々な変異が生じていることが明らかになったが(Kanesaki et al. 2012, Trautmann et al. 2012),「*pmgA*の研究室内小進化」は、これらの報告に先駆けて、点突然変異が生じて野生型と置き換わっていく様子をリアルタイムで捉えていたことになる。当初予定していた、変異原処理により強光感受性株を取得する計画は全く上手くいかなかったが、野生株中に生じた自然突然変異に気づき、*pmgA*を同定したことが学位取得につながったのは筆者にとって幸運であった。後日談として、池内研で維持していた野生株には、その後再び*pmgA*に突然変異が生じ、2012年時点でGT-I株(ゲノムリシーケンスが行われた当時の池内研の野生株)に特異的な変異として、909360番塩基の置換によるE45K変異がリストされている(Kanesaki et al. 2012)。

1.2 *pmgA*欠損株の光混合栄養条件下での表現型

pmgA L35F株や*pmgA*欠損株を、終濃度5 mMのグルコースを加えたBG11プレートに塗り広げ、パラフィルムを巻いて50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 程度の光を当てて培養すると、3日間程度は順調に増殖して緑色が濃くなるが、その後、厳しい増殖阻害と退色が観察される。パラフィルムを巻か

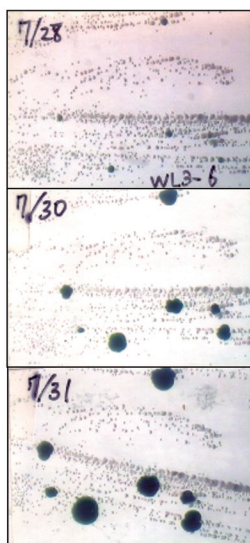


図2：光混合栄養条件下の $pmgA$ L35F株から疑似復帰変異株が生じる様子

1996年当時の実験ノートより、終濃度5 mMグルコースを添加したBG11プレートにパラフィルムを巻き、 $50 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の光照射下で7/23から培養を開始すると、7/26には増殖が止まり、7/27に退色が始まり、7/28には疑似復帰変異株の緑色のコロニーが出現した。これらのコロニーよりゲノムDNAを抽出し、変異部位を同定した。

ない場合や、グルコースとともにDCMUを添加して光合成電子伝達を阻害した光従属栄養条件では、増殖阻害は観察されない。グルコースを添加しての液体通気培養では、被陰効果を防ぐため24時間毎に植え継ぎを繰り返すと、野生株が一定の速度で増殖するのに対し、 $pmgA$ 変異株は最初の植え継ぎ以降の増殖が遅れ、光が強いほど、 CO_2 濃度が高いほど、顕著な増殖阻害が観察される (Takahashi et al. 2008, Haimovich-Dayana et al. 2011, Nishijima et al. 2015)。シアノバクテリアは細胞小器官を持たないため、チラコイド膜上で光合成と呼吸の電子伝達鎖が共有され、細胞質において各種代謝反応が区画化されることなく行われる。光合成による炭素同化と糖異化の両方が可能な光混合栄養条件下では、相反する方向性の代謝反応を両立させる必要があり、 $pmgA$ 変異株ではこの制御に異常があると推測された。 $pmgA$ 変異株をグルコース入りのプレート上で培養して5日ほど経過すると、退色が進む一方で、疑似復帰変異株の緑色のコロニーが多く出現してくる (図2)。筆者は、 $pmgA$ 変異株の致死原因に関して手がかりを得るため、これらのコロニーについて光混合栄養条件下での増殖を可能とする原因遺伝子を同定しようと考えた。 $pmgA$ L35F株から生じた疑似復帰変異株の各コロニーからゲノムDNAを抽出し、 $pmgA$ を同定したときと同じ要

領で、光混合栄養条件下での $pmgA$ L35F株の致死性を相補するゲノム領域を絞り込んだところ、7株中6株から全く同じ $ndhF3$ ($sll1732$) G354W変異が同定された。この結果を検証するため、 $pmgA$ 欠損株に対し、 $ndhF3$ G354W変異を導入、もしくは $ndhF3$ を欠損させると、いずれの場合も大気条件下では野生株並みの光混合栄養増殖が可能となった。1% CO_2 の光混合栄養条件下では、G354W変異は十分な相補効果を示したが、 $ndhF3$ 欠損はそれ自体が増殖遅延を招いた。当時、名古屋大学の小川教授のグループは、S.6803のI型NAD (P) Hデヒドロゲナーゼ (NDH-I) 複合体サブユニットの欠損株で CO_2 取り込みが阻害されることを見出し (Ohkawa et al. 2000)、 $NdhF3$ 、 $NdhD3$ ($sll1733$ にコードされる)、 $CupA$ ($sll1734$ にコードされる) が低 CO_2 条件下で誘導される高親和性 CO_2 取り込みユニットを、 $NdhF4$ 、 $NdhD4$ 、 $CupB$ が恒常的に発現する低親和性 CO_2 取り込みユニットを形成することを報告していた (Shibata et al. 2001)。 $pmgA$ 変異株ではグルコースと CO_2 の取り込み制御の異常が、光混合栄養条件下での致死原因であると推測されたが、当時の筆者にはこれ以上の研究の展開は難しく、これらのデータはイスラエルのKaplan教授のグループのデータと一緒に後年発表され、ようやく日の目を見た (Haimovich-Dayana et al. 2011)。

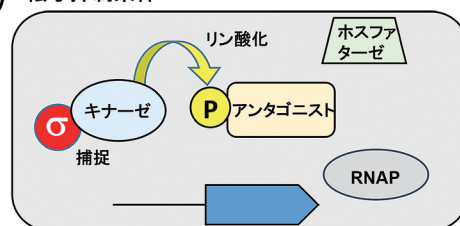
1.3 $pmgA$ 欠損株の強光下での表現型

$PmgA$ は光混合栄養条件下での生存に必要な因子として同定されたが、 $pmgA$ 欠損株の表現型解析から、長期間の強光条件下での生存にも必須であることが明らかになった (Hihara et al. 1998)。S.6803の弱光下での光化学系 I / 系 II 比は2程度であるが、 $200\text{--}300 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 程度の強光に移すと、クロロフィルとフィコビリンの合成や、系 I とフィコビリソームサブユニット遺伝子の転写が厳しく抑制され、結果として倍加時間である6時間が経過した頃には、細胞あたりの光合成色素量と系 I 量は半減し、系 I / 系 II 比は1に近づく。この応答は、単量体あたり95分子ものクロロフィルを結合し、自ら光捕集を行う系 I と、単量体に結合するクロロフィルは35分子でありフィコビリソームによって集光能を補う系 II が、強光下でそれぞれアンテナサイズを減少させる結果である。 $pmgA$ 欠損株もこの初期応答は正常に行うものの、強光照射6時間以降、一旦減少したクロロフィル合成活性、および系 I 反応中心遺伝子 $psaAB$ 転写産物量を低く保つことができず、野生株に比べて系 I / 系 II 比が増加していく (Hihara et al. 1998, Muramatsu and Hihara 2003, Muramatsu et al. 2009)。強光下での系 I 量が野生株より30%以上多い $pmgA$ 欠損株では、

プラストキノンプールが野生株に比べて酸化的であり、系Ⅱは光障害を受けにくい。そのため、短期間の強光条件下では野生株より光合成電子伝達活性が高く、増殖速度も速いが、光混合栄養条件下での実験と同様、24時間毎に薄く植え継ぐと、強光48時間以降、生存率が大きく低下する (Sonoike et al. 2001)。pmgA欠損株に少量のDCMUを添加して、強光下での光合成活性を野生株程度に低下させると、その増殖阻害が回避されることから、S.6803野生株が強光下で系Ⅰ/系Ⅱ比を低下させる生理的意義は、光合成電子伝達活性の最適化ではなく、光合成電子伝達活性を抑制し、系Ⅰ還元側における還元力過剰による有害な活性酸素分子種の生成を防ぐことにあると考えられる。系Ⅰ量を絞ることで、電子伝達鎖の上流側は過還元になりやすく、系Ⅱは光障害のリスクにさらされるが、S.6803からすれば、損傷・修復を日常的に繰り返している系Ⅱが壊れるほうが、修復機構が備わっていない系Ⅰが壊れるよりダメージが少ないということであろう。近年、米国のPakrasi教授が、モデルシアノバクテリア*Synechococcus elongatus* PCC 7942とゲノム上で55ヌクレオチドの違いしかないものの、 $1,500 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、5%CO₂、42℃の超強光条件下で、倍加時間1.5時間という速さで増殖可能な*Synechococcus elongatus* UTEX 2973株の解析を行い、この株では、PCC 7942株と比べて、系Ⅰ量が1.6倍、シトクロム b_6f 複合体量が1.5倍、プラストシアニンが2.4倍多いことを報告した (Ungerer et al. 2018)。UTEX 2973株は、S.6803のpmgA変異株と同様、強光下で系Ⅰ量を絞らずに光合成電子伝達活性を最大化しており、かつS.6803と異なり、光合成電子伝達鎖から供給される豊富な還元力を十分消費できる代謝キャパシティーを持つため、還元力過剰による増殖阻害を招かないのかもしれない。

遺伝子欠損株の表現型解析から、PmgAは光混合栄養条件下での炭素代謝制御や、強光下でのクロロフィル量や系Ⅰ量の制御に必須な因子であることが明らかになってきたが、細胞内で具体的にどのように働いているのか、その分子機構は不明なままであった。PmgAのアミノ酸配列について相同性検索を行うと、その当時、英米のグループがしのぎを削って解明を進めていたパートナースイッチングシステム (PSS) のセリンキナーゼ (アンチシグマ因子) と全長にわたり、特にキナーゼ活性部位やヌクレオチド結合ドメイン (N box, G1 box, G2 box等) において、高い相同性を示した。このことから、PmgAはATPを結合してキナーゼ活性を示すのではないかと推測されたが、その検証にはこれまで行ってきた生理学解析ではなく、PmgAタンパク質の生化学解析が必要であった。

(A) 転写抑制条件



(B) 転写活性化条件

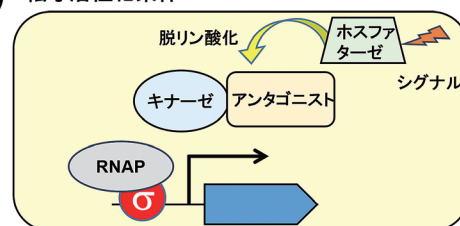


図3：典型的なパートナースイッチングシステムの模式図

(A) 転写抑制条件. アンタゴニストはキナーゼによりリン酸化され、キナーゼは標的シグマ因子を捕捉する。(B) 転写活性化条件. ホスファターゼに脱リン酸化されたアンタゴニストがキナーゼと相互作用することで、シグマ因子が解放され、RNAポリメラーゼコア酵素(RNAP)に結合して標的遺伝子 (青色部分) の転写活性化に働く。

2. 枯草菌のパートナースイッチングシステム

2.1 SpoII系による σ^F の制御

細菌は、増殖のステージや環境変動に応じて特定の遺伝子群を発現誘導するために、何種類ものシグマ因子を使い分ける。シグマ因子はRNAポリメラーゼの着脱可能なサブユニットであり、コア酵素に結合して標的遺伝子のプロモーター認識に関わる。特定の条件下で働くシグマ因子が固有のプロモーター配列を認識することで、それぞれ異なる遺伝子群の発現が誘導される。たとえば栄養増殖期の枯草菌細胞では主要シグマ因子である σ^A が働いているが、栄養が欠乏して胞子形成初期に入ると σ^H が働き、不等分裂が起きる。その結果として生じた母細胞では σ^E と σ^K 、胞子細胞では σ^F と σ^G が順番に働き、胞子形成の各段階で必要とされる遺伝子群を誘導していく。1980年代から、各シグマ因子を適切なタイミングで合成・活性化する調節機構の研究が進められ、パートナースイッチングシステム (PSS) はその過程で σ^F の活性制御機構として発見された。

σ^F をコードするspoIIAC遺伝子は、spoIIAA、spoIIABとオペロンを形成している。Schmidtら (1990) は、これらの変異株の表現型解析から、SpoIIABが σ^F 標的遺伝子の転写活性化を阻害する一方で、SpoIIAAはSpoIIABの阻害効果を

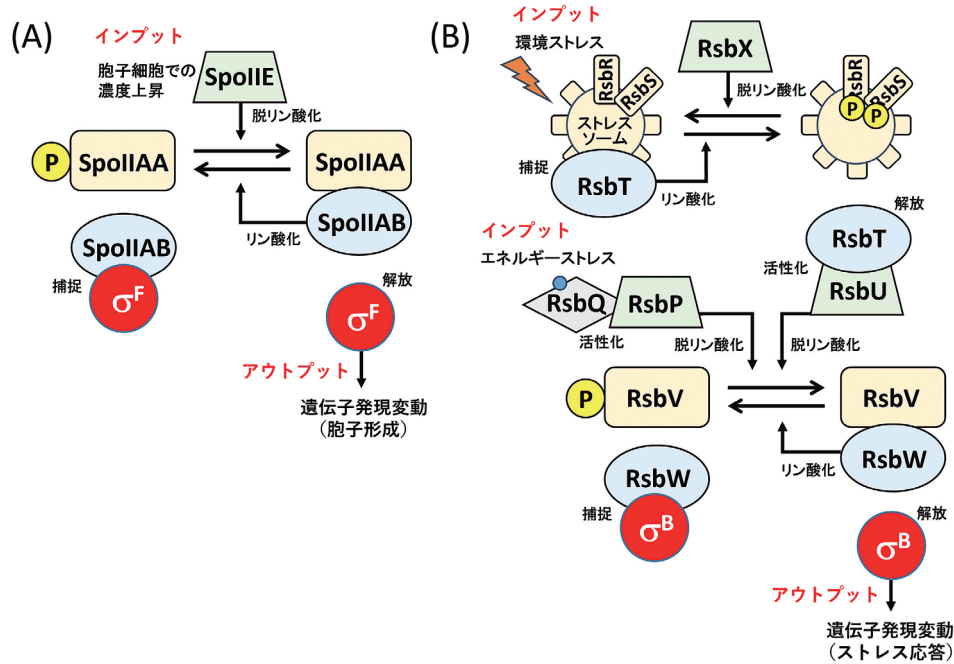


図4：枯草菌のパートナースイッチングシステム
(A) SpoII系による σ^F の制御, (B) Rsb系による σ^B の制御

抑制することを明らかにした。以後、複数の研究グループにより、これらの因子の調節関係について遺伝学および生化学解析が進められ、それらの結果にもとづき、Alperらが1994年に「パートナースイッチング」の概念を提唱した。典型的なPSSは、HATPaseドメインを持つセリンキナーゼ、STAS (sulfate transporter and anti-sigma antagonist) ドメインを持つアンタゴニスト、およびPP2C型ホスファターゼから成る。転写抑制条件下において、アンタゴニストはキナーゼによりリン酸化されており、リン酸化型アンタゴニストはキナーゼと相互作用しない。キナーゼは標的シグマ因子を捕捉し、RNAポリメラーゼコア酵素への結合を抑制している (図3A)。一方、転写活性化条件では、何らかのシグナルを受けてホスファターゼが活性化され、アンタゴニストを脱リン酸化する。脱リン酸化されたアンタゴニストはキナーゼに対し、シグマ因子よりも高い親和性を示す。その結果、キナーゼの相互作用パートナーが、シグマ因子から脱リン酸化型のアンタゴニストにスイッチングし、解放されたシグマ因子がRNAポリメラーゼコア酵素に結合することで、標的遺伝子の転写が活性化される (図3B)。この調節系において、代謝シグナルや環境シグナルを検知し、パートナースイッチングの引き金を引くのはホスファターゼということになる。PSSのキナーゼはシグマ因子を捕捉してその機能を抑制することから、一般的には「アンチシグマ因子」と呼称される。し

かし後述するように、現在ではシグマ因子を制御対象としないPSSが数多く同定されており、本稿ではその実態に即して「キナーゼ」と表記する。

SpoII系におけるキナーゼSpoIIAB、アンタゴニストSpoIIAA、ホスファターゼSpoIIEの働きは1990年代のうちにほぼ解明されたが (図4A)、SpoII系の因子が不等分裂以前から転写翻訳されているのに関わらず、 σ^F が胞子細胞でのみ活性化される分子機構は長らく不明であった。現在では、SpoIIEが不等分裂隔壁の胞子細胞側に局在し (Khanna et al. 2021, Chareyre et al. 2024)、母細胞側に存在するSpoIIEはプロテアーゼFtsHに分解されることが示されており (Bradshaw and Losick, 2015)、母細胞に比べ胞子細胞でSpoIIE濃度が高くなる結果として、SpoIIAAが脱リン酸化され、 σ^F が活性化されるという分子機構が提唱されている。

2.2 Rsb系による σ^B の制御

枯草菌では、 σ^F を制御するSpoII系と並行して、 σ^B を制御するPSSについても研究が進められた (図4B)。 σ^B は、熱、塩、酸、有機溶媒などの環境ストレスや、栄養飢餓や対数増殖期から定常期への移行などのエネルギーストレスに応答して遺伝子発現を誘導するシグマ因子で、SpoII系と同様、PSSの他の構成因子とともにオペロンを形成している。オペロンを構成する遺伝子は $rsbR$ - $rsbS$ - $rsbT$ - $rsbU$ -

*rsbV-rsbW-sigB-rsbX*と、SpoII系と比べて多いが、これはRsb系が上流・下流の2つのモジュールから成るためである (Pané-Farré et al. 2005) (図4B)。上流モジュールの構成成分である推定センサータンパク質RsbRと足場タンパク質RsbSは、それぞれアンタゴニストと相同性を示しSTASドメインを持つ。これらのSTASドメインが会合することで、ストレスソームと呼ばれるリング状の複合体を形成し、非ストレス条件下ではキナーゼRsbTを捕捉している (Zhao et al. 2024)。また、下流モジュールではキナーゼRsbWが σ^B を捕捉している。環境ストレスシグナルを受けるとストレスソームは構造変化を起こし、RsbTによりRsbRとRsbSがリン酸化される。RsbTはストレスソームから解離し、ホスファターゼRsbUと相互作用する。その結果、RsbUが活性化されて下流モジュールのアンタゴニストRsbVを脱リン酸化することで、RsbVはRsbWと相互作用できるようになり、RsbWから σ^B が解放される結果として、ストレス応答遺伝子群の転写が活性化される。ストレスソームによる環境ストレス検知機構は未だ解明されていないが、センサータンパク質RsbRのパラログ4種 (RsbRA, RB, RC, RD) が、それぞれ異なるストレス応答特性を持ち、複数の環境シグナルを統合していると考えられている。ストレスシグナルが消失すると、RsbRとRsbSはホスファターゼRsbXにより脱リン酸化されRsbTを再び捕捉する。結果として、RsbUは再び不活化され、下流モジュールではRsbWが σ^B を捕捉する。一方、エネルギーストレス条件下では、RsbUとは異なるホスファターゼRsbPがシグナルインプットに働くことが知られている。 α/β 加水分解酵素であるRsbQがRsbPを活性化すると、RsbVが脱リン酸化されてパートナースイッチングが起き、 σ^B が解放される。RsbQがエネルギーストレスを検知する機構は不明であるが、最近、植物における生理活性物質であるブテノライドが結合するとRsbQのシグナリング活性が抑制され、 σ^B レギュロンの転写活性化を抑制、枯草菌のバイオフィーム形成を促進するという報告がなされ (Melville et al. 2024)、ブテノライド様のエフェクター分子が関与する可能性が示されている。

3. PmgA研究のその後の展開

3.1 光混合栄養条件下での*pmgA*欠損株の

メタボローム解析

筆者は2000年に埼玉大学の助手として着任して以降、PmgAタンパク質の生化学実験を行うために、各種の発現ベクターや大腸菌を用いて、Hisタグ、GSTタグ、SUMOタ

グ等を、N末、C末に付加してのPmgAの大量発現と精製を試みたが、可溶性画分からの精製はいずれも成功せず、封入体から精製した場合には透析時に大量に凝集してしまった。大腸菌由来の翻訳因子で構成された無細胞翻訳系も試したが十分量のタンパク質を得ることができず、枯草菌でのPSS研究の展開を目的のあたりにしながら、PmgAタンパク質の機能解析を始める目はなかなか立たなかった。一方、2000年代に発達した網羅的解析手法により、国内外のグループにより*pmgA*欠損株の表現型解析が進められた。筆者らはキャピラリー電気泳動質量分析 (CE/MS) による代謝解析を行い (Takahashi et al. 2008)、光混合栄養条件 (グルコース添加, 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の光照射, 1% CO_2 で通気培養) で24時間の培養後に、*pmgA*欠損株では野生株に比べて、イソクエン酸が10倍蓄積する一方、6-ホスホグルコン酸、リブロース-5-リン酸、グリセルアルデヒド-3-リン酸などの糖リン酸は、野生株ほど高蓄積しないことを見出した。さらに、グルコースの有無によらず*pmgA*欠損株では光合成活性 (酸素発生活性) が野生株より高く、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼと6-ホスホグルコノラクトナーゼの酵素活性は野生株より低く、グルコース添加後に野生株のような呼吸活性 (酸素消費活性) の増加が見られない等のデータが得られたことから (Takahashi et al. 2008)、*pmgA*欠損株では恒常的に光合成活性が高い一方、光混合栄養条件下で酸化的ペントースリン酸経路の活性化が十分でないと予想された。米国のBryant教授のグループが、グルコースの有無によらず、*pmgA*欠損株では細胞内に野生株の2倍程度の糖が蓄積していると報告したことから (Sakuragi et al. 2006)、*pmgA*欠損株では、炭素同化活性に比べて異化活性が低いことが、光混合栄養条件下での増殖阻害の原因となっている可能性がある。

3.2 *pmgA*欠損株のトランスクリプトーム解析

筆者らがDNAマイクロアレイ解析により、光混合栄養条件下 (グルコース添加, 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の光照射, 1% CO_2 で通気培養) で6時間培養後の野生株と*pmgA*欠損株の遺伝子発現プロファイルを比較したところ、両株ともリボソームタンパク質遺伝子や*groEL*等、少数の遺伝子が発現誘導されるのみで、株間の違いは観察されなかった。S.6803にグルコースを添加しても遺伝子発現変動が顕著でないことは他グループからも報告されており、光独立栄養から光混合栄養への代謝モードの切り換えは転写制御によらず行われていると考えられる。一方、デンマークとドイツのグループは光独立栄養条件下 (50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 3% CO_2 で通気培養) でDNAマイクロアレイ解析を

行い (de Porcellinis et al. 2016), *pmgA* 欠損株において, 系 II 反応中心サブユニット遺伝子やリボソームタンパク質遺伝子の発現レベルが高く, 系 I やフィコビリソームのサブユニット遺伝子の発現レベルが低いといった, 強光下での野生株と似た遺伝子発現プロファイルを報告している. 彼らはノンコーディングRNA Ncr0700 の発現量が, 野生株に比べて *pmgA* 欠損株で 8 倍低いことに着目し, その遺伝子欠損株を作製すると, *pmgA* 欠損株と同様に光混合栄養条件下で増殖阻害を示し, グリコーゲンを高蓄積したことから, これを PmgR1 と命名した. *pmgA* 欠損株において PmgR1 を過剰発現させると, 光混合栄養条件下での表現型が相補されることから, PmgR1 はシグナル伝達経路において PmgA の下流に位置し, 光混合栄養条件下での代謝制御に関与している可能性がある.

3.3 光混合栄養条件下における *pmgA* 欠損株の疑似復帰変異株の解析

池内研時代に行った *pmgA* L35F 株の疑似復帰変異株の解析結果では, 7 コロニー中 6 コロニーから全く同じ *ndhF3* G354W 変異が同定され, その時点で *pmgA* L35F 株の中に広がりつつあった突然変異体を拾った結果であると考えられた. それから 15 年ほどが経過し, 次世代シーケンサーによる全ゲノム塩基配列決定が可能になったことで, 今度は *pmgA* 欠損株からシングルコロニーを単離し, まず遺伝的背景を均一にした後に, グルコース添加プレート上で新たに生じる疑似復帰変異株を単離し, その変異部位を同定してみようと思い立った (Nishijima et al. 2015). 驚くべきことに, シングルコロニー由来の親株を用いたにも関わらず, 変異を同定できた 13 株中, 8 株は *ndhF3* 内に変異をもち, その内訳は, R32stop, W62stop (2 株), V147I, G266V, G354W, G586C, コーディング領域内 7 bp の欠失と, 615 アミノ酸の全長にわたり変異が生じていた. 残りの 5 株中, 2 株は *ndhF3* とオペロンを形成している *cupA* コーディング領域内への 1 塩基の挿入および欠失, 1 株は *ndhC* (*slr1279*) 上流域の推定-10 配列への 1 塩基挿入により *ndhCKJ* の転写産物量が減少しており, 2 株は翻訳開始因子 IF-2 をコードする *infB* (*slr0744*) 内の 433 bp 欠失であった. じつに, 13 株中, 11 株が NDH-1 複合体に関連する遺伝子に変異をもつという結果になった. この頃までには, S.6803 の NDH-1 複合体アイソフォームの生理機能に関する情報が蓄積しており, 呼吸鎖の複合体 I として働く NDH-1L 複合体が他生物の NDH-1 と同様, L 字型を取るのに対し, CO₂ 濃縮機構の一環として働く NDH-1MS 複合体では, 膜貫通サブユニットである NdhD1 と NdhF1 の代わりに低 CO₂

誘導型の NdhD3 と NdhF3 が組み込まれ, CO₂ 水和活性を持つ CupA が L 字型の先端に結合しているため U 字型構造をとることが明らかになっていた (Folea et al. 2008). NDH-1 複合体が電子伝達に共役してチラコイド膜のルーメン側へプロトンを取り込むのに伴い, 細胞質側には局所的にアルカリ領域が形成される. その環境を利用して, CupA が CO₂ を重炭酸イオンに変換することで, 取り込んだ CO₂ の細胞外への漏出を防ぐとともに, 細胞内の CO₂ 濃度を下げてさらなる取り込みを促進し, 細胞内 CO₂ 濃縮に寄与していると考えられる (Han et al. 2017). 3.1 節で述べたように, *pmgA* 欠損株は光混合栄養条件下において, 炭素同化活性に比べて異化活性が低い. 疑似復帰変異株の変異部位が NDH-1MS 複合体に集中していたという実験結果は, この複合体が寄与する CO₂ 取り込み活性を低下させることで, 炭素同化と異化のバランスが回復し, 光混合栄養条件下での生存が可能になることを示しているかもしれない. そこで筆者らは野生株, *pmgA* 欠損株, 疑似復帰変異株の CO₂ 取り込み活性を比較したが, 残念ながら有意な差を検出することはできなかった (Nishijima et al. 2015). しかし, *pmgA* 欠損株の光混合栄養条件下での致死性は, 無機炭素が CO₂ ではなく重炭酸イオンの形をとる pH 8.0 では観察されないという報告もあり (Sakuragi et al. 2006), これまでに得られている知見はいずれも, 炭素源としてグルコースと CO₂ を共に利用可能な条件下で *pmgA* 欠損株が致死となることを示している. 今後, PmgA と NDH-1MS 複合体の関係性を解明するためには, PmgA の直接の制御対象を同定する必要があると考えられる.

4. パートナースイッチングシステムの多様性

シグマ因子の捕捉と解放により遺伝子発現を制御する典型的な PSS は枯草菌で発見されたが, 2000 年代に入ると, グラム陽性・陰性を問わず, 様々な細菌種で研究が進められ, 細胞分化, 運動性, バイオフィーム形成, 病原性の獲得など, 多様な細胞機能の制御に利用されていることが明らかになってきた (Bouillet et al. 2018). また, キナーゼ, アンタゴニスト, ホスファターゼがそれぞれ独立したタンパク質として働くのではなく, 例えば, N 末側にキナーゼドメイン, 中央にレスポンスレギュレーターのリシーバドメイン, C 末側にホスファターゼドメインなど, 複雑なドメイン構造をもつ因子が様々な組み合わせで働くことが分かってきた. また, 9 個の σ^B ホモログ, 45 個の RsbW ホモログ, 17 個の RsbV ホモログ, 44 個の RsbU/RsbP ホモログが複雑な調節ネットワークを形成していると考えられる

5.1.2 PmgAとSsr1600

S.6803のもう1つのキナーゼPmgAの生化学実験については進展のない状態が続いていたが、筆者らは2017年にコムギ無細胞翻訳系による*in vitro*合成によって、ようやくリン酸化アッセイを行えるだけのPmgAタンパク質を得ることに成功した。4種のアンタゴニストSsr1600, Slr1912, Slr1856, Slr1859は、Hisタグタンパク質として大腸菌中で容易に発現・精製することができたので、これらをPmgAの*in vitro*翻訳液と混合し、 $\gamma^{32}\text{P}$ -ATPを添加してリン酸化反応を行うと、4種のアンタゴニストのうち、His-Ssr1600を添加した場合のみ、リン酸化バンドが検出された。キナーゼ活性に必須とされる56番アスパラギンをアラニンに置換したPmgAを用いた場合には、リン酸化バンドは検出されなかった (Nakamura et al. 2024)。

次に、実際にS.6803細胞内でSsr1600がPmgAによりリン酸化されるかどうか調べるため、*pmgA*と*ssr1600*の遺伝子欠損株・過剰発現株について、Ssr1600を抗体検出した。すると*pmgA*欠損株では、*ssr1600*の転写は正常に行われているにも関わらずSsr1600タンパク質が全く検出されず、*pmgA*過剰発現株では*ssr1600*過剰発現株と同様にSsr1600の高蓄積が観察された。さらに、いずれの株においてもSsr1600はリン酸化型としてのみ検出されることから、Ssr1600が細胞内に蓄積するためにはPmgAによるリン酸化が必須であることが分かった。強光下での表現型解析を行うと、1.2項で述べた*pmgA*欠損株 (Ssr1600が蓄積しないため、実質的には*pmgA ssr1600*二重欠損株) と同様、*ssr1600*の欠損株でも、強光照射6時間以降、一旦減少したクロロフィル合成活性と系I反応中心遺伝子*psaAB*転写産物量を低く保つことができない表現型が観察された。PmgAとSsr1600から成るPSSは、二重欠損株とアンタゴニスト単独欠損株の表現型が同じであることから、3項で述べた「非典型的な系」に分類され、しかもリン酸化によりパートナースイッチングが起きるのではなく、アンタゴニストの蓄積量が制御されるという、これまでに報告例のない独自の系であることが明らかになった (図5) (Nakamura et al. 2024)。

遊離のクロロフィルは光酸化ストレスの原因となるため、クロロフィルとアポタンパク質の合成は協調的に制御される必要がある。PmgA-Ssr1600系はこの制御を行い、系I量やクロロフィル量を適正に保つことで、光合成電子伝達反応による還元力供給レベルの調節を行っていると考えられる。光混合栄養条件下でのPmgA-Ssr1600系の働きは不明であるが、Slr1861-Slr1856-IcfG系とのクロストークにより、光合成による還元力供給と炭素代謝による還

元力消費とのバランス制御に関わっている可能性がある (図5)。PmgAは4種のアンタゴニストのうち、Ssr1600のみをリン酸化したが、Bacterial two-hybrid法によりタンパク質間相互作用を検出すると、Ssr1600, Slr1856, Slr1859と同程度に強く、Slr1912とは弱い相互作用を示した。前節で述べたように、Slr1856とSlr1859はキナーゼSlr1861によりリン酸化されることが示されている (Shi et al. 1999)。Slr1856やSlr1859がPmgAと相互作用することで、PmgA-Ssr1600間相互作用に影響を与える、反対に、Ssr1600がSlr1861と相互作用することで、Slr1861-Slr1856間相互作用に影響を与えるといった、PSS間のクロストークが存在するかもしれない。*pmgA*欠損株が、炭素同化活性に比べて異化活性が低く、高CO₂条件・グルコース存在下で致死となる (Takahashi et al. 2008) のに対し、*icfG*欠損株は、炭素同化活性が低く、低無機炭素(Ci)条件・グルコース存在下で致死になるという知見 (Beuf et al. 1994) は、炭素代謝制御に関してのPmgAとIcfGの密接な関連を示唆している。

5.1.3 ホスファターゼ

S.6803ゲノムにコードされている推定PP2Cホスファターゼ8種のうち、Slr0114, Slr1860 (IcfG), Slr1983, Slr2031, Sll1365は、枯草菌のPSSホスファターゼであるSpoIIEやRsbUと同じSpoIIEクラスに分類される (Irmeler and Forchhammer 2001)。PSSホスファターゼは、C末側のPP2Cホスファターゼドメインに加え、N末端側に活性制御のためのドメインを持つ場合も多く、Slr1860 (IcfG) とSll1365はHAMPドメイン、Slr1983はヒスチジinkinナーゼ (HisKA) とレスポンスレギュレーター (REC) ドメイン、Slr2031はGAFドメインを持つ。これらのうち、PSSホスファターゼであることが実験的に示されているのは、5.1.1節で述べたIcfGのみであるが、Slr2031については、S.6803野生株間での変異の有無について研究報告が存在する。現在使用されているS.6803野生株には様々な系統があるが、それらはすべて1968年にカリフォルニアの淡水環境から単離されたS.6803をストック化したBerkeley株に由来している。その株がカルチャーコレクションに登録されてPCC株、およびATCC株とされ、ATCC株から単離されたグルコース耐性株がGT株であり、GT株からシングルコロニーとして単離され、1996年に全ゲノム塩基配列が決定された株がKazusa株である (Ikeuchi and Tabata 2001, Kanesaki et al. 2012)。PCC株とGT株のゲノムには14か所の違いがあり (Kanesaki et al. 2012)、そのうちの1つが、GT株における*slr2031*の上流域154 bpの欠失である。2か所のダイレクトリピートで相同組換えが起きた結果、その内側の*slr2031*

開始コドンを含むゲノム領域を欠失したと考えられる。PCC株において*slr2031*を欠損させると、GT株と同様に運動性を失い、強光耐性の獲得、強光下でのクロロフィルとフィコシアニン含量の増加、形質転換効率の上昇など、その表現型はGT株に近づいた (Kamei et al. 1998)。同じくPSSホスファターゼをコードすると推測される*slr1983*も、GT株では1塩基置換の結果としてA225V変異が生じている (Kanesaki et al. 2012)。1.1節で述べた*pmgA*の研究室内小進化の例のように、PSSの因子が変異すると、特定の条件下で生存に有利になる場合があるため、集団内に変異が定着しやすいのかもしれない。

5.2 *Synechococcus elongatus* PCC 7942

S.6803と同様に自然形質転換が可能な、淡水性・単細胞のモデルシアノバクテリア*Synechococcus elongatus* PCC 7942は、PSSのキナーゼ、アンタゴニスト、ホスファターゼ遺伝子を各1個ずつ保持しており、キナーゼホモログについて研究報告が存在する。シアノバクテリアは栄養欠乏条件下では、豊富に存在する集光アンテナタンパク質複合体フィコビリソームを積極的に分解して、光捕集と代謝の不均衡を防ぐとともに、フィコビリタンパク質の構成成分をリサイクルする。*Synechococcus elongatus* PCC 7942では、この応答を行えず、栄養欠乏条件下でも退色しないnon-bleaching表現型を示す変異株が複数単離され、その原因遺伝子が同定されてきた。そのうちの1つは、PmgAとのアミノ酸配列同一性が47%であるキナーゼホモログをコードしており、*nblC*と命名された (Sendersky et al. 2005)。*nblC*欠損株では窒素や硫黄欠乏条件下で*nblA*が発現誘導されず、*nblC*過剰発現株では*nblA*の発現量が増加してフィコビリソームの分解が促進された。*NblA*は、約60アミノ酸のアダプタータンパク質であり、フィコビリタンパク質、フィコビリ色素のアポタンパク質への結合を触媒するリアーゼ、およびClpプロテアーゼなど、複数のタンパク質と相互作用してフィコビリソームの分解に働く (Hu et al. 2020)。*nblA*の発現誘導に関わるレスポンスレギュレーター *NblR* (Luque et al. 2001)の欠損株では、*nblC*を過剰発現させても、フィコビリソームの分解が促進されないことから (Sendersky et al. 2005)、*NblC*は*NblR*と競合する因子を捕捉するなどして、間接的に*nblA*の発現制御に関与するのではないかと考えられている。S.6803の*pmgA*欠損株では、窒素欠乏条件下での*nblA*の誘導レベルが野生株に比べて低い、フィコビリソームの分解は野生株と同様に観察される (Sato et al. 2008)。

1.2項で述べた*Synechococcus elongatus* PCC 7942の近

縁種で、強光条件下で高速増殖が可能な*Synechococcus elongatus* UTEX 2973株において、強光耐性に寄与する因子を同定するため、ゲノム上のPCC 7942株と異なる部位を1つずつPCC 7942型に置換し、強光感受性となる原因遺伝子を同定する実験が行われた。その結果、N末端側にGAFドメインを持つPP2Cホスファターゼ遺伝子が同定され、*hltA* (high light tolerance protein A) と命名された (Walker and Pakrasi 2022)。*HltA*の35番残基はPCC 7942株ではアルギニンであるが、UTEX 2973株ではシステインであることが強光耐性の原因であると推測された。*HltA*はS.6803の*Slr2031*オルソログであり、前節で述べた、PCC株において*slr2031*を欠損させるとGT株のように強光耐性を獲得したという報告と合致する (Kamei et al. 1998)。

5.3 *Nostoc punctiforme* PCC 73102

淡水性・糸状性のモデルシアノバクテリア*Nostoc punctiforme* PCC 73102のゲノムには、キナーゼ4遺伝子、キナーゼとホスファターゼのハイブリッド1遺伝子、キナーゼと二成分制御系因子のハイブリッド1遺伝子、アンタゴニスト6遺伝子、ホスファターゼ4遺伝子、およびストレスソームの構成成分RsbRSTモジュールをコードするオペロンが存在する。枯草菌のRsb系のように上流・下流に分かれたPSSが存在すると考えられるが、その詳細は不明である。これまでに解析が進んでいるPSSは、Hmp系とHcy系であり、どちらもホルモゴニア (連鎖体)の分化および運動性を制御する (図6)。ホルモゴニアとは、糸状性シアノバクテリアが分化する短いフィラメントであり、栄養細胞より細胞サイズが小さく、IV型線毛を用いた滑走運動により、コロニーやマットの形成、好適光環境下への移動、宿主植物への共生など、ダイナミックな環境応答を行う (Risser 2023)。ホルモゴニアへの分化は光強度や栄養状態の変化、共生パートナーの分泌物など様々な要因により引き起こされ、運動性が48～72時間程度持続した後に、再び栄養細胞状態へと戻る。

Hmp系はキナーゼHmpW、アンタゴニストHmpV、ホスファターゼHmpUから成る系で、ホルモゴニアの分化やホルモゴニア状態の維持に働く (図6A) (Riley et al. 2018)。*hmpV*あるいは*hmpU*が欠損すると、細胞表層の多糖類や、ピリ線毛を構成するPilAタンパク質の蓄積量が減少し、ホルモゴニアの運動性や、ホルモゴニア状態の継続時間も減少する。一方、*hmpW*の欠損はホルモゴニアの運動性を増加させ、ホルモゴニア状態の継続時間も長くなる。*hmpV*・*hmpW*二重欠損株の表現型は*hmpV*欠損株と同様であることから、シグナル伝達の下流に位置しアウトプッ

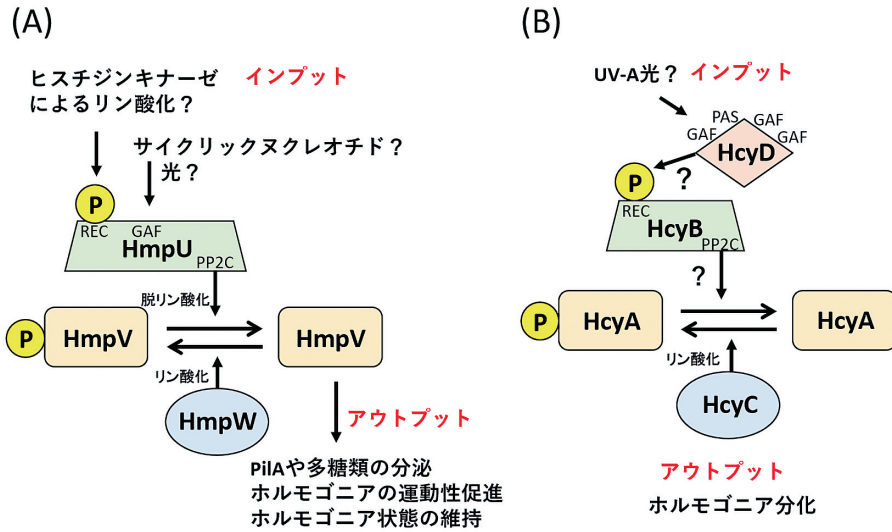


図6: *Nostoc punctiforme* PCC 73102のパートナースイッチングシステム
(A)Hmp系, および(B)Hcy系によるホルモゴニア分化の制御

トとして働くのは、アンタゴニストHmpVであると考えられる。環境シグナルのインプットは、ホスファターゼHmpUのN末端側に存在するRECドメインやGAFドメインが、ヒスチジinkinナーゼによるリン酸化、あるいはサイクリックヌクレオチドや光といったシグナルを受け、C末端側のPP2Cホスファターゼドメインを活性化することで行われると推測されている。HmpVはHmpWにリン酸化されると不活化し、HmpUにより脱リン酸化されると、未同定の標的タンパク質と相互作用し、PilAや細胞外多糖の分泌に関わる遺伝子の発現を促進、運動性を増加させると考えられており、PmgA-Ssr1600の場合と同様、アンタゴニストがアウトプットとして働く点で、アンチシグマ因子による σ 因子の捕捉・解放をアウトプットとする典型的なPSSとは異なっている。Hmp系はほとんど全ての糸状性種に保存されているが、単細胞種には存在しないことから、糸状性シアノバクテリア特有の運動や分化の制御に働くと考えられる。

Hcy系はキナーゼHcyC、アンタゴニストHcyA、ホスファターゼHcyBから成る系で、UV-A照射時のホルモゴニア分化を制御する(図6B)(Klicki et al. 2022)。hcyAを欠損すると、野生株に比べてUV-A照射下でのホルモゴニア分化が抑制されるが、hcyCを欠損してもそのような影響は見られないことから、HcyCはホルモゴニア分化カスケードの阻害に働き、HcyAがHcyCによる阻害を解除すると推測される。つまりこの系は典型的なPSSとして働いている可能性があるが、HcyCはホルモゴニア分化に関わるシグマ因子として同定されているSigC、SigF、SigJとは相互作用せ

ず、Hcy系のアウトプットの分子機構は不明である。この系のインプットに関しては、マルチセンサーヒスチジinkinナーゼHcyDがUV-A光を検知し、ホスファターゼHcyBのRECドメインをリン酸化するのではないかと推測されている。UV-A照射下の*N. punctiforme*は、ホルモゴニアに分化して逃避行動をとるか、栄養細胞のままでUV-A吸収物質であるスキトネミンを合成するか、フィラメント単位で異なる応答戦略を取ることが知られている。Hcy系はスキトネミン合成を制御する二成分制御系とホルモゴニア分化を制御する σ 因子の両方により発現誘導されることから、両シグナル伝達経路のクロストークに働き、UV-A応答戦略の選択に関わっているのかもしれない。

5.4 *Leptolyngbya boryana* IAM M-101

淡水性・糸状性シアノバクテリア*Leptolyngbya boryana* IAM M-101のゲノムには、キナーゼ4遺伝子、アンタゴニスト6遺伝子、ホスファターゼ3遺伝子が存在する。*Leptolyngbya boryana* IAM M-101はグルコース等の糖を与えることで、暗所での従属栄養増殖が可能である。名古屋大の藤田教授のグループは、この株を長期間暗所で培養することで、暗所での増殖が促進され、明所での光合成増殖が抑制された自然突然変異株を単離した(Hida et al. 2024)。興味深いことに、28株中の19株において、PP2CホスファターゼをコードするLBWT_21500遺伝子上に何らかの変異が同定された。変異の多くがC末側のPP2Cホスファターゼドメインに集中していたことから、ホスファターゼ活性の欠損もしくは低下が、暗所での従属栄養増殖促進と

明所での独立栄養増殖の抑制をもたらすと考えられ、このホスファターゼはPhsP (phototrophic-heterotrophic switching phosphatase) と命名された。PhsP はN末端側にGAFドメインを持ち、S.6803のSlr2031, *Synechococcus elongatus* PCC 7942のHltAのオルソログと考えられるが、Slr2031やHltAの欠損株が強光耐性を得るのに対し、PhsP欠損株では光独立栄養増殖が抑制されることから、これらの生理的役割は異なっているように思われる。一方で、光独立栄養条件下における*phsP*欠損株の、野生株に比べてクロロフィルが少なく、光化学系系Ⅰ/系Ⅱ比が低く、光合成活性が低いという表現型は、S.6803の*pmgA*欠損株と真逆であり、PSSにおいてホスファターゼとキナーゼである両者の、機能的関連性が示唆される。

5.5 今後の展望

シアノバクテリアにおいて、PSSの構成因子については1990年代から遺伝子欠損株の表現型解析が行われてきたが、PSS全体の分子機構とその生理的役割については、2018年の*Nostoc punctiforme* PCC 73102のHmp系を皮切りに、ようやく複数の種において、解析が本格化してきた段階にあると言えよう。分子機構については、シグマ因子の捕捉・解放を行わないPSSでどのようにアウトプットが行われているのか、今後、個々の系について相互作用因子を同定する必要がある。S.6803の*PmgA*と*Ssr1600*の解析からは、アンタゴニストのリン酸化がタンパク質間相互作用のスイッチングに働くのではなく、アンタゴニスト自体の蓄積量制御に働くという、他の細菌で報告例のない新しい制御の形が見えてきた。アンタゴニストがアウトプットとして働く非典型的な系のバリエーションとして、今後、*Ssr1600*の相互作用因子の同定や、脱リン酸化型の*Ssr1600*が速やかに分解される分子機構の解明を行いたい。また、2つのPSSのクロストークにより光合成と炭素代謝の協調的制御が行われているのかどうか、どのホスファターゼがどのようにシグナルインプットに働いているのか等、S.6803のPSSの全体像を明らかにすべく、解析を進めていきたい。

シアノバクテリアのPSSの生理的役割については、*Nostoc*のHmp系やHcr系が、これまでに報告されてきた様々な細菌のPSSと同様、ストレス応答や細胞分化、運動性などを制御対象としている一方で、S.6803, *Synechococcus elongatus* PCC 7942, *Leptolyngbya boryana* IAM M-101のPSS構成因子は、光や栄養条件の変動に応答しての光化学系Ⅰ、フィコビリソーム、クロロフィル合成など光合成系の制御や、炭素源の多寡や種類に応答しての炭素同化・異化

活性の制御など、代謝を制御対象としている点が他細菌と一線を画している。代謝制御を担うPSSの構成因子に起きた突然変異は、光独立栄養・光混合栄養・従属栄養条件下での増殖の有利不利に直結し、有利な条件下において集団内に広まり定着することが、*PmgA*, *Slr2031*, *HltA*, *PhsP*などの研究から明らかになってきた。また、増殖に不利な条件下ではそのまま死に絶えるのではなく、*PmgA*欠損株の*ndhF3*変異に見られるように、ゲノム上の別部位に生じる疑似復帰変異により、逆境を乗り越えて増殖していく。このたくましさは、シアノバクテリアが地球上のあらゆる環境下に生息域を広げることができた一因と考えられる。本項で取り上げた4種のみを見ると、単細胞種に比べて糸状性種のほうが多くのPSS因子を持つように思えるが、シアノバクテリア全体に目を向けると、キナーゼを1, 2個しか持たない*Synechococcus elongatus* PCC 7942やS.6803のような種は少数派で、3個から5個を保持している単細胞種が多く存在する。おそらく、シアノバクテリアにとって最も重要なのは、キナーゼを1, 2個しか持たない種に保存されている代謝制御用のPSSであり、多くのキナーゼを持つ種は、それに加えて他の細菌に見られるような、細胞分化や運動性、ストレス応答等を制御するPSS、さらにストレスソームなどを保持しているのであろう。今後、多くの種について解析が進むことで、シアノバクテリアにおけるPSSの多様性が明らかになると期待される。

謝辞

筆者の博士課程における研究指導から、本稿に対するご助言まで、池内昌彦先生には長きにわたり様々な形でお世話になり続けてきました。また、埼玉大学におけるS.6803のPSS研究の展開は、多くの卒研究生、大学院生の皆さんの努力によるものです。心より感謝申し上げます。本稿はJSPS科研費 23H04962の助成を受けて執筆しました。

参考文献

- Alper, S., Duncan, L. and Losick, R. (1994) An adenosine nucleotide switch controlling the activity of a cell type-specific transcription factor in *B. subtilis*. *Cell* 77:195-205.
- Beuf, L., Bédu, S., Durand, M.C. and Joset, F. (1994) A protein involved in co-ordinated regulation of inorganic carbon and glucose metabolism in the facultative photoautotrophic cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803. *Plant Mol Biol.* 25: 855-864.

- Bouillet, S., Arabet, D., Jourlin-Castelli, C., Méjean, V. and Iobbi-Nivol, C. (2018) Regulation of sigma factors by conserved partner switches controlled by divergent signalling systems. *Environ Microbiol Rep.* 10: 127-139.
- Bradshaw, N. and Losick, R. (2015) Asymmetric division triggers cell-specific gene expression through coupled capture and stabilization of a phosphatase. *eLife.* 4: 1-18.
- Chareyre, S., Li, X., Anjuwon-Foster, B.R., Updegrave, T.B., Clifford, S., Brogan, A.P., Su, Y., Zhang, L., Chen, J., Shroff, H. and Ramamurthi, K.S. (2024) Cell division machinery drives cell-specific gene activation during differentiation in *Bacillus subtilis*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 121: e2400584121.
- Folea, M., Zhang, P., Nowaczyk, M.M., Ogawa, T., Aro, E.-M. and Boekema, E.J. (2008) Single particle analysis of thylakoid proteins from *Thermosynechococcus elongatus* and *Synechocystis* 6803: Localization of the CupA subunit of NDH-1. *FEBS Lett.* 582: 249-254.
- Haimovich-Dayan, M., Kahlon, S., Hihara, Y., Hagemann, M., Ogawa, T., Ohad, I., Lieman-Hurwitz, J. and Kaplan, A. (2011) Cross-talk between photomixotrophic growth and CO₂-concentrating mechanism in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Environ Microbiol.* 13: 1767-1777.
- Han, X., Sun, N., Xu, M. and Mi, H. (2017) Co-ordination of NDH and Cup proteins in CO₂ uptake in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J Exp Bot.* 68: 3869-3877.
- Hida, S., Nishio, M., Uesaka, K., Banba, M., Takatani, N., Takaichi, S., Yamamoto, H., Ihara, K. and Fujita, Y. (2024) Microevolution toward loss of photosynthesis: Mutations promoting dark-heterotrophic growth and suppressing photosynthetic growth in cyanobacteria. *BioRxiv*, doi.org/10.1101/2024.04.08.588626
- Hihara, Y. and Ikeuchi, M. (1997) Mutation in a novel gene required for photomixotrophic growth leads to enhanced photoautotrophic growth of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photosynth Res.* 53: 243-252.
- Hihara, Y., Sonoike, K. and Ikeuchi, M. (1998) A novel gene, *pmgA*, specifically regulates photosystem stoichiometry in the cyanobacterium *Synechocystis* species PCC 6803 in response to high light. *Plant Physiol.* 117: 1205-1216.
- Hu, P.-P., Hou, J.-Y., Xu, Y.-L., Niu, N.-N., Zhao, C., Lu, L., Zhou, M., Scheer, H. and Zhao, K.-H. (2020) The role of lyases, NblA and NblB proteins and bilin chromophore transfer in restructuring the cyanobacterial light-harvesting complex. *Plant J.* 102: 529-540.
- Ikeuchi, M. and Tabata, S. (2001) *Synechocystis* sp. PCC 6803 - a useful tool in the study of the genetics of cyanobacteria. *Photosynth Res.* 70: 73-83.
- Irmeler, A. and Forchhammer, K. (2001) A PP2C-type phosphatase dephosphorylates the PII signaling protein in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 12978-12983.
- Kamei, A., Ogawa, T. and Ikeuchi, M. (1998) Identification of a novel gene (*slr2031*) involved in high-light resistance in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photosynthesis: Mechanisms and Effects.* pp.2991-2994, Kluwer Academic Publishers
- Kanesaki, Y., Shiwa, Y., Tajima, N., Suzuki, M., Watanabe, S., Sato, N., Ikeuchi, M. and Yoshikawa, H. (2012) Identification of substrain-specific mutations by massively parallel whole-genome resequencing of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *DNA Res.* 19: 67-79.
- Khanna, K., Lopez-Garrido, J., Sugie, J., Pogliano, K. and Villa, E. (2021) Asymmetric localization of the cell division machinery during *Bacillus subtilis* sporulation. *eLife* 10: e62204.
- Klicki, K., Ferreira, D., Risser, D. and Garcia-Pichel, F. (2022) A regulatory linkage between scytonemin production and hormogonia differentiation in *Nostoc punctiforme*. *iScience* 25: 104361.
- Luque, I., Zabulon, G., Contreras, A. and Houmard, J. (2001) Convergence of two global transcriptional regulators on nitrogen induction of the stress-acclimation gene *nblA* in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942. *Mol Microbiol.* 41: 937-947.
- Melville, K.T., Kamran, M., Yao, J., Costa, M., Holland, M., Taylor, N.L., Fritz, G., Flematti, G.R. and Waters, M.T. (2024) Perception of butenolides by *Bacillus subtilis* via the α/β hydrolase RsbQ. *Curr Biol.* 34: 623-631.
- Mercer, R.G. and Lang, A.S. (2014) Identification of a predicted partner-switching system that affects production of the gene transfer agent RcGTA and stationary phase viability in *Rhodobacter capsulatus*. *BMC Microbiol.* 14: 71.
- Morris, A.R. and Visick, K.L. (2013) The response regulator SypE controls biofilm formation and colonization through phosphorylation of the *syp*-encoded regulator SypA in *Vibrio fischeri*. *Mol Microbiol.* 87: 509-525.
- Muramatsu, M. and Hihara, Y. (2003) Transcriptional regulation

- of genes encoding subunits of photosystem I during acclimation to high-light conditions in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Planta* 216: 446-453.
- Muramatsu, M., Sonoike, K. and Hihara, Y. (2009) Mechanism of downregulation of photosystem I content under high-light conditions in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Microbiology* 155: 989-996.
- Nakamura, R., Takahashi, Y., Tachibana, S., Terada, A., Suzuki, K., Kondo, K., Tozawa, Y. and Hihara, Y. (2024) Partner-switching components PmgA and Ssr1600 regulate high-light acclimation in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Physiol.* 196: 621-633.
- Nishijima, Y., Kanesaki, Y., Yoshikawa, H., Ogawa, T., Sonoike, K., Nishiyama, Y. and Hihara, Y. (2015) Analysis of spontaneous suppressor mutants from the photomixotrophically grown *pmgA*-disrupted mutant in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photosynth Res.* 126: 465-475.
- Ohkawa, H., Price, G.D., Badger, M.R. and Ogawa, T. (2000) Mutation of *ndh* genes leads to inhibition of CO₂ uptake rather than HCO₃⁻ uptake in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *J Bacteriol.* 182: 2591-2596.
- Pané-Farré, J., Lewis, R.J. and Stülke, J. (2005) The RsbRST stress module in bacteria: a signalling system that may interact with different output modules. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 9: 65-76.
- de Porcellinis, A.J., Klähn, S., Rosgaard, L., Kirsch, R., Gutekunst, K., Georg, J., Hess, W.R. and Sakuragi, Y. (2016) The non-coding RNA Ncr0700/PmgR1 is required for photomixotrophic growth and the regulation of glycogen accumulation in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 57: 2091-2103.
- Riley, K.W., Gonzalez, A. and Risser, D.D. (2018) A partner-switching regulatory system controls hormogonium development in the filamentous cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. *Mol Microbiol.* 109: 555-569.
- Risser, D.D. (2023) Hormogonium development and motility in filamentous cyanobacteria. *Appl Environ Microbiol.* 89: e0039223.
- Sakuragi, Y., Maeda, H., Dellapenna, D. and Bryant, D.A. (2006) Alpha-tocopherol plays a role in photosynthesis and macronutrient homeostasis of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 that is independent of its antioxidant function. *Plant Physiol.* 141: 508-521.
- Sato, H., Fujimori, T. and Sonoike, K. (2008) *sll1961* is a novel regulator of phycobilisome degradation during nitrogen starvation in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Lett.* 582: 1093-1096.
- Schmidt, R., Margolis, P., Duncan, L., Coppolecchia, R., Moran Jr, C.P. and Losick, R. (1990) Control of developmental transcription factor sigma F by sporulation regulatory proteins SpoIIAA and SpoIIAB in *Bacillus subtilis*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 87: 9221-9225.
- Sendersky, E., Lahmi, R., Shaltiel, J., Perelman, A. and Schwarz, R. (2005) NblC, a novel component required for pigment degradation during starvation in *Synechococcus* PCC 7942. *Mol Microbiol.* 58: 659-668.
- Sevcikova, B., Rezuchova, B., Mingyar, E., Homerova, D., Novakova, R., Feckova, L. and Kormanec, J. (2020) Pleiotropic anti-anti-sigma factor BldG is phosphorylated by several anti-sigma factor kinases in the process of activating multiple sigma factors in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Gene* 755: 144883.
- Shi, L., Bischoff, K.M. and Kennelly, P.J. (1999) The *icfG* gene cluster of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 encodes an Rsb/Spo-like protein kinase, protein phosphatase, and two phosphoproteins. *J Bacteriol.* 181: 4761-4767.
- Shibata, M., Ohkawa, H., Kaneko, T., Fukuzawa, H., Tabata, S., Kaplan, A. and Ogawa, T. (2001) Distinct constitutive and low-CO₂-induced CO₂ uptake systems in cyanobacteria: genes involved and their phylogenetic relationship with homologous genes in other organisms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98: 11789-11794.
- Sonoike, K., Hihara, Y. and Ikeuchi, M. (2001) Physiological significance of the regulation of photosystem stoichiometry upon high light acclimation of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 42: 379-384.
- Takahashi, H., Uchimiya, H. and Hihara, Y. (2008) Difference in metabolite levels between photoautotrophic and photomixotrophic cultures of *Synechocystis* sp. PCC 6803 examined by capillary electrophoresis electrospray ionization mass spectrometry. *J Exp Bot.* 59: 3009-3018.
- Trautmann, D., Voß, B., Wilde, A., Al-Babili, S. and Hess, W.R. (2012) Microevolution in cyanobacteria: Re-sequencing a motile substrain of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *DNA Res.* 19: 435-448.
- Ungerer, J., Lin, P.-C., Chen, H.-Y. and Pakrasi, H.B. (2018) Adjustments to photosystem stoichiometry and electron

transfer proteins are key to the remarkably fast growth of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* UTEX 2973. *mBio* 9: e02327-17.

Walker, P.L. and Pakrasi, H.B. (2022) A ubiquitously conserved cyanobacterial protein phosphatase essential for high light tolerance in a fast-growing cyanobacterium. *Microbiol Spectr*. 10: e0100822.

Zhao, Z., Hajiahmadi, F., Alehashem, M.S. and Williams, A.H. (2024) Molecular architecture and function of the bacterial stressosome. *Curr Opin Microbiol*. 82:102541.