

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22310131

研究課題名(和文) 死海の耐塩性ラン藻のナトリウムイオンおよびグリシンベタイン濃度の制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of sodium and glycine betaine in a halotolerant cyanobacterium *Aphanotech e halophytica*

研究代表者

高倍 昭洋 (Takabe, Teruhiro)

名城大学・総合研究所・教授

研究者番号：80097766

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円、(間接経費) 3,870,000円

研究成果の概要(和文)：死海という高塩濃度のもとで生育するラン藻の塩ストレス適応機構をNa⁺イオン濃度と浸透圧調節に焦点を絞り明らかにした。その結果、このラン藻はF-typeのNa⁺-ATPaseをもつこと、紫外線カット物質を合成すること、PhoDというアルカリフォスファターゼやアミノ酸トランスポーター、浸透圧適合溶質ベタインの前駆体グリシンの供給が塩ストレス適応に重要であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Molecular mechanisms of regulations for sodium ion and osmoprotect glycinebetaine were studied using a halotolerant cyanobacterium from Dead Sea. F-type Na⁺-ATPase, sunscreen molecules were identified. Importance of PhoD alkaline phosphatase, amino acid transporters and precursors of glycine were examined.

研究分野：ゲノム科学

科研費の分科・細目：応用ゲノム科学・環境ゲノム

キーワード：耐塩性ラン藻
グリシンベタイン
圧

塩ストレス 環境 食糧 植物 遺伝子工学 浸透

1. 研究開始当初の背景

植物をはじめ多くの生物は、ストレスに曝されると、グリシンベタイン(ベタイン)などの適合溶質を蓄積して蛋白質、核酸の失活を防止することが知られている。これまでの研究では、ベタイン合成遺伝子をもたず塩に弱いイネなどにベタイン合成遺伝子を導入して、塩耐性を向上させようとする試みは数多くなされてきたが、ベタイン蓄積量は低く更なる改善が必要であった。そこで、申請者たちは、ベタインを大量に蓄積するシュガービートや死海のラン藻の塩ストレス適応機構を調べることが重要であると考えた。

2. 研究の目的

本課題は、塩性ラン藻 (*Aphanothece halophytica*) の Na⁺イオン濃度と浸透圧調節に焦点を絞り研究を進めることとした。

3. 研究の方法

塩性ラン藻 (*Aphanothece halophytica*) の Na⁺イオン濃度と浸透圧調節機構を遺伝子レベルで明らかにすることとした。

4. 研究成果

このラン藻は通常のF-type H⁺-ATPase とともにF-type の Na⁺-ATPase と思われる遺伝子をもつことをみいだした。実際に新規F-type ATPase遺伝子を単離し、F-type ATPase をもたない大腸菌の変異株DK8 にプラスミドの形で導入した後、このAp-ATPase を部分精製し、これがATP の加水分解活性、合成活性を持つことを明らかにし、J Biol. Chem. に論文として発表した。

Aphanothece halophytica のアルカリフォスファターゼD(PhoD)が塩ストレスにより誘導されることを見出した。これまで、ラン藻のPhoDに関する研究は皆無の状況であったので、PhoD遺伝子を単離しその生化学的性質と生理的役割について調べAppl. Environ. Microbiol. に論文として発表した。

Aphanothece halophytica のリン欠乏時の生化学的、生理的、分子的応答について調べEur. J. Phycol. に論文として発表した。

Aphanothece halophytica からグルタミン酸トランスポーターと思われる遺伝子を単離し、その生化学的性質を調べ Biosci. Biotech. Biochem. に論文として発表した。

Aphanothece halophytica が紫外線をカットする物質sunscreen(マイクロスポリン用アミノ酸)を合成することを見出し、その合成に関与する遺伝子を同定した。この遺伝子は塩ストレスで強く誘導された。これらの結果はAppl. Environ. Microbiol. に論文として発表した。

Aphanothece halophytica は高塩濃度下ではベタインを大量に蓄積する。*Aphanothece halophytica* のベタインはグリシンの3段階のメチル化で合成するので、グリシンの供給について研究した。その結果、セリンとグリシンの変換を触媒するセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (SHMT) が重要であることを明らかにしFEMS Lett. に論文として発表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計12件)

1. Waditee-Sirisattha R, Kageyama H, Sopun W, Tanaka Y, Takabe T. Identification and upregulation of biosynthetic genes required for accumulation of mycosporine-2-glycine under salt stress conditions in the halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. Appl Environ Microbiol 80, 1763-1769 (2014) 査読有

2. Yamada N, Theerawitaya C, Cha-um S, Kirdmane C, Takabe T. Expression and functional analysis of putative vacuolar Ca²⁺-transporters (CAXs and ACAs) in roots of salt tolerant and sensitive rice cultivars. Protoplasma in press (2014) 査

読有

3 . Tripathi K, Kageyama H, Takabe T, Rai AK. Physiological, biochemical and molecular responses of the halophilic cyanobacterium *Aphanothece halophytica* to Pi-deficiency. Eur J Phycology 48: 461-473 (2013) 査読有

4 . Cha-um S, Yamada N, Takabe T, Kirdmanee C. Physiological features and growth characters of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in response to reduced water-deficit and rewatering. Aust J Crop Sci 7, 432-439 (2013) 査読有

5 . Boonburapong B, Laloknam S, Yamada N, Incharoensakdi A, Takabe T. Sodium-dependent uptake of glutamate by novel ApGltS enhanced growth under salt stress of halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. Biosci Biotechnol Biochem. 76, 1702-1707 (2012) 査読有

6 . Waditee-Sirisattha R, Singh M, Kageyama H, Sittipol D, Rai AK, Takabe T. *Anabaena* sp. PCC7120 transformed with glycine methylation genes from *Aphanothece halophytica* synthesized glycine betaine showing increased tolerance to salt. Arch Microbiol. 194, 909-914 (2012) 査読有

7 . Waditee-Sirisattha R, Sittipol D, Tanaka Y, Takabe T. Overexpression of serine hydroxymethyltransferase from halotolerant cyanobacterium in *Escherichia coli* results in increased accumulation of choline precursors and enhanced salinity tolerance. FEMS Microbiol Lett. 333, 46-53 (2012) 査読有

8 . Kageyama H, Tripathi K, Rai AK, Cha-Um S, Waditee-Sirisattha R, Takabe T. An alkaline phosphatase/phosphodiesterase, PhoD, induced by salt stress and secreted out of the cells of *Aphanothece halophytica*, a halotolerant cyanobacterium. Appl Environ Microbiol. 77, 5178-5183 (2011) 査読有

9 . Waditee-Sirisattha R, Shibato J, Rakwal R, Sirisattha S, Hattori A, Nakano T, Takabe T, Tsujimoto M. The Arabidopsis aminopeptidase LAP2 regulates plant growth, leaf longevity and stress response. New Phytol. 191, 958-969 (2011) 査読有

10 . Yamada N, Sakakibara S, Tsutsumi K, Waditee R, Tanaka Y, Takabe T. Expression and substrate specificity of betaine/proline transporters suggest a novel choline transport mechanism in sugar beet. J Plant Physiol. 168, 1609-1616 (2011) 査読有

11 . Yamada N, Cha-Um S, Kageyama H, Promden W, Tanaka Y, Kirdmanee C, Takabe T. Tree Physiol. 31:462-468 (2011) 査読有

12 . Soontharapirakkul K, Promden W, Yamada N, Kageyama H, Incharoensakdi A, Iwamoto-Kihara A, Takabe T. alotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* contains an Na⁺-dependent F₁F₀-ATP synthase with a potential role in salt-stress tolerance. J Biol Chem. 286, 10169-10176 (2011) 査読有

{学会発表}(計 件)
省略

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高倍昭洋 (TAKABE TERUHIRO)
名城大学・総合研究所・教授
研究者番号：80097766

(2) 研究分担者

田中義人 (TANAKA YOSHITO)
名城大学・理工学部・教授
研究者番号：10247679

(3) 連携研究者

()

研究者番号：