

解説

シアノバクテリアの強光ストレス下で活性化される膜脂質の脱アシル化

高谷信之¹⁾, 愛知真木子¹⁾¹⁾中部大学応用生物学部

要 旨

シアノバクテリアの膜脂質は、脱アシル化/再アシル化サイクルにより修飾を受けている。我々は、これまでにシアノバクテリアの膜脂質の脱アシル化が強光ストレス条件下で活性化されることを明らかにしている。しかし、その生理的意義は不明である。これは、脱アシル化を触媒するリパーゼが未同定であることが大きな要因である。本稿では、我々が行ったシアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 におけるリパーゼ遺伝子の探索とそれとは別種の *Synechocystis* sp. PCC 6803 におけるリパーゼの強光ストレスに対する機能についての最近の知見について解説する。

Keywords : Cyanobacteria, High-light stress, Lipase, Photosynthesis

1. はじめに

シアノバクテリアの生体膜は、ガラクト糖脂質のモノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG) とジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG)、硫糖脂質のスルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG) 及びリン脂質のホスファチジルグリセロール (PG) の4種から主に構成されている (図 1A)。これらの膜脂質は、通常、脱アシル化を受けていることが知られており、それにより生じた遊離脂肪酸 (FFA) はアシル-ACP 合成酵素 (Aas) を介して脂質合成に再利用される (図 1B)。我々は、シアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 (S.7942) と *Synechocystis* sp. PCC 6803 (S.6803) において強光ストレスにより膜脂質の脱アシル化が促進されることを明らかにしている (Takatani et al. 2015, Kojima et al. 2022)。このことから、膜脂質の脱アシル化がシアノバクテリアの強光ストレス適応に深く関与していることが考えられる。しかし、その詳細な分子機構は分かっていない。

我々は、強光適応における膜脂質の脱アシル化の生理的意義を明らかにするために、脱アシル化を触媒するリパーゼに着目し、S.7942 におけるリパーゼ

遺伝子の探索を行ってきた。本稿では、S.6803 における光合成の光阻害に対するリパーゼの機能について最近の報告を紹介するとともに、新たに同定した S.7942 のリパーゼについて今後の研究展開を解説する。

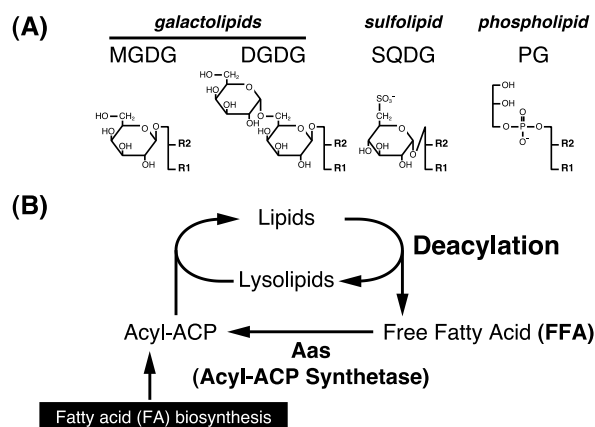


図1. シアノバクテリアの主要な膜脂質(A)と膜脂質の脱アシル化/再アシル化サイクル(B)

2. 強光ストレスで活性化される膜脂質の脱アシル化

シアノバクテリアの Aas を欠損させた変異株は、FFA の再利用ができないため、FFA を細胞内に蓄積し、培地中に漏出させることが知られている

(Kaczmarzyk and Fulda 2010). 我々は, S.7942 の Aas 欠損株を強光 ($400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で生育させると, 弱光 ($50 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) と比べて細胞内に FFA を高蓄積し, それに伴って MGDG, DGDG, SQDG 及び PG に由来するそれぞれのリゾ脂質であるモノガラクトシルモノアシルグリセロール(MGMG), ジガラクトシルモノアシルグリセロール(DGMG), スルホキノボシルモノアシルグリセロール(SQMG) 及び リゾホスファチジルグリセロール(LysoPG)も蓄積することを見出している (図 2, Takatani et al. 2015, 2025). このことから, S.7942 において 4 種全ての膜脂質の脱アシル化が強光ストレスにより促進されることが明らかとなった. 更に, S.6803 の Aas 欠損株についても強光条件下 ($400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) での FFA の高蓄積が確認されており (Kojima et al. 2022), これらのことから膜脂質の脱アシル化がシアノバクテリアの強光ストレス適応機構のひとつであることが考えられる.

シアノバクテリアは, 膜脂質を構成する脂肪酸分子

High light stress

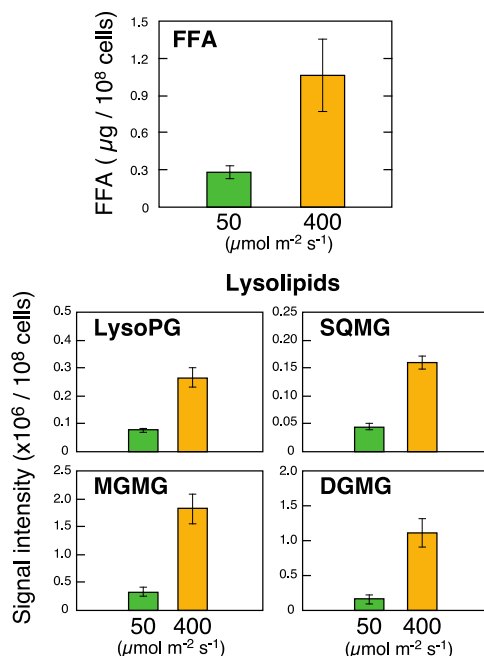


図 2. S.7942 の Aas 欠損株における強光ストレスによる細胞内 FFA 及びリゾ脂質の蓄積量の増加

弱光条件 ($50 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) または強光条件 ($400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で 48 時間生育させた S.7942 の Aas 欠損株における細胞内の FFA 及びリゾ脂質の蓄積量を調べた. (Takatani et al. 2025 を改変.)

種の違いをもとにして 4 種のグループに分類されており, グループ 4 に分類される S.6803 の膜脂質は *sn*-1 位に炭素鎖 18 (C18) の脂肪酸, *sn*-2 位に炭素鎖 16 (C16) の脂肪酸を結合していることが知られている (Murata et al. 1992). S.6803 の Aas 欠損株が強光条件下で主に C16 の脂肪酸を蓄積したことから, S.6803 では強光ストレスで活性化される膜脂質の脱アシル化には *sn*-2 位特異的なリパーゼが関与していることが示唆されている (Kojima et al. 2022). 一方, *sn*-1 位, *sn*-2 位ともに C16 の脂肪酸が結合した膜脂質を持つグループ 1 に分類される S.7942 については, 強光ストレスでどの位置の脂肪酸が切られているのかは蓄積する脂肪酸の分子種からの推定が困難であり, 今のところ不明である.

3. *Synechocystis* sp. PCC 6803 の光合成の強光ストレス適応におけるリパーゼの機能

光合成の電子伝達反応は, チラコイド膜に局在する光化学系 II (PSII), シトクロム b_6f 複合体 (Cyt b_6f) 及び光化学系 I (PSI) を介して行われる. 光は光合成を駆動するために必須なエネルギーであるが, 過剰な光エネルギーは PSII を損傷させ, 光合成活性を低下させる光阻害を引き起こす. そのため, シアノバクテリアを含む光合成生物は, 損傷した PSII を迅速に修復し, 強光ストレス下での光合成活性を維持している. PSII の修復は, 反応中心タンパク質 D1 の分解を含めた損傷した PSII の解体と D1 タンパク質の新規合成を含めた PSII の再構築の大きく 2 つの過程から成る (図 3, Mulo et al. 2012, Nickelsen and Rengstl 2013). 最近 S.6803 において, この PSII の修復にリパーゼが深く関与していることが報告されている.

S.6803 の *slh1969* 遺伝子によりコードされるリパーゼ LipA は, 生化学的に MGDG や DGDG, トリアシルグリセロールの C18 の脂肪酸の脱アシル化を触媒し, *in vivo* においてはこのうち MGDG の脱アシル化が PSII の修復に関与していることが明らかにされている (Jimbo and Wada 2023). PSII は二量体として活性型を形成しているが, PSII の解体過程における D1

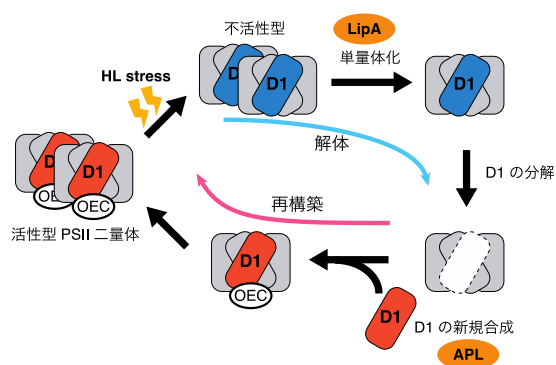


図 3. PSII の修復サイクルとそれに関与するリパーゼ

強光ストレス (HL stress) により活性中心 D1 タンパク質に損傷を受けた PSII 二量体は、酸素発生複合体 (OEC) が解離し、解体過程で単量体化され、D1 が分解される。その後、修復過程で D1 は新規合成され、活性型の PSII 二量体が再構成される。S.6803 のリパーゼ LipA は PSII の単量体化に、APL は D1 の新規合成に関与する。

タンパク質の分解の際には単量体化が必要である。LipA による、MGDG の *sn*-1 位に結合した C18 脂肪酸の脱アシル化は、PSII の単量体化を促進し、D1 タンパク質の分解及び PSII の修復を助けると報告されている (Jimbo and Wada 2023)。

LipA とは別の *slh0482* 遺伝子によりコードされるリパーゼ APL は、生化学的にアシルプラストキノール (APQ) の脱アシル化を触媒し、これが D1 の新規合成に関与していることが明らかにされている (Jimbo et al. 2024)。APQ は、最近発見された PSII と Cytb₆f との間の電子伝達を担うプラストキノール (PQH₂) がアシル化された化合物である (Ishikawa et al. 2023, Kondo et al. 2023, Mori-Moriyama et al. 2023)。Jimbo らは、低 CO₂ 条件のようなエネルギーシンクが制限された環境で強光ストレスに曝された際の余剰な還元力の貯蔵物質として APQ が機能しており、強光ストレスが過ぎ去った後の PSII の再構築過程での D1 の新規合成に使用する還元力として、APL が APQ を脱アシル化して PQH₂ を供給すると推察している (Jimbo et al. 2024)。

4. *Synechococcus elongatus* PCC 7942 におけるリパーゼの探索

S.6803 では LipA や APL といったリパーゼの報告

がある一方、S.7942 ではそれらのホモログは存在しておらず、リパーゼに関する情報はこれまで全くなかった。そこで、我々はこれまでに S.7942 におけるリパーゼの探索を試みてきた。一般的にリパーゼは、 α/β hydrolase スーパーファミリーに属している。S.7942 のゲノム情報から、22 個の遺伝子によりコードされるタンパク質がそのファミリーのモチーフを有し、そのうち 17 個がリパーゼに特徴的な Gly-X-Ser-X-Gly の活性部位のモチーフを有することがわかった。これら 17 個の遺伝子について大腸菌を用いた組み換えタンパク質の作製を試みたところ、10 個の遺伝子において精製タンパク質を得ることができた。次に、これら 10 個の組み換えタンパク質に対して、MGDG, DGDG, SQDG 及び PG を基質とした *in vitro* での脱アシル活性を調べた結果、*synpcc7942_0451*, *synpcc7942_1349*, *synpcc7942_0391* の 3 個の遺伝子産物にリパーゼ活性があることを明らかにし、それらの遺伝子を *lipB*, *lipC*, *lipD* と名付けた (Takatani et al. 2025)。これら 3 つのリパーゼは異なるドメイン構造を有しており、各脂質に対する特異性については、LipB と LipD は MGDG と DGDG のガラクト脂質に対して活性を示し、LipC はガラクト脂質に加えて PG に対しても活性を示した (図 4)。

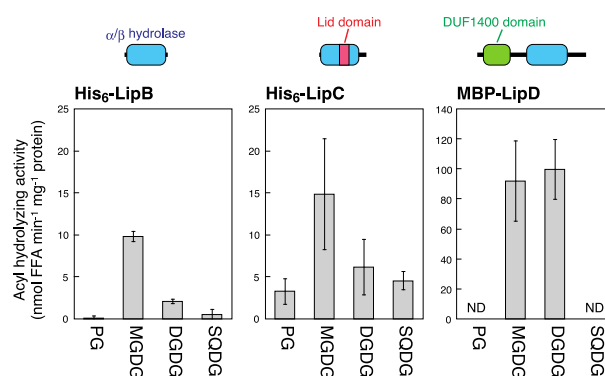


図 4. S.7942 において新たに同定したリパーゼ

大腸菌を用いて得られた組み換えタンパク質を PG, MGDG, DGDG, SQDG の各脂質と混合し、生成した FFA 量からリパーゼの比活性を算出した。各グラフ上の図は、それぞれのリパーゼのドメイン構造を模式的に示す。(Takatani et al. 2025 を改変)

5. 今後の展望

シアノバクテリアにおけるリパーゼの生理機能に関する研究は、本稿でまとめた通り最近になって着目されつつある分野である。今後は、S.7942 については新たに同定した *lipB*, *lipC*, *lipD* の各リパーゼ遺伝子の機能解析を行い、強光ストレス下で活性化される膜脂質の脱アシル化との関連を解明する必要がある。実際、*lipB* については、強光ストレス下でのガラクト脂質の脱アシル化に寄与し、具体的な役割はまだ不明であるものの強光ストレス適応に関与していることを明らかにしている (Takatani et al. 2025)。しかし、それと同時に強光ストレス下で活性化される膜脂質の脱アシル化には、PG や SQDG の脱アシル化に寄与するリパーゼ等 LipB 以外のリパーゼの関与が示唆され、組み換えタンパク質を用いた生化学的手法以外の新たなアプローチからリパーゼ遺伝子の探索を試みる必要があると考えられる。S.6803 についても、LipA は強光ストレス適応に関与するリパーゼのひとつであるが、強光ストレスにより活性化される *sn*-2 位特異的なリパーゼではない。このことから、S.6803 にある *lipB* と *lipD* のホモログを含めて新たな強光ストレス適応に関与するリパーゼの探索を進める必要がある。また、S.7942 には LipA と APL のホモログが存在しない一方で、S.6803 には LipC のホモログは存在しない。つまり、これらシアノバクテリアにおけるリパーゼの探索とその機能解析を通して、4 つのグループに分類されるシアノバクテリアの膜脂質の多様性が各種ストレス環境への適応様式にどのように関連するのか、その多様性と普遍性の解明に寄与できることが期待される。

引用文献

- Ishikawa T, Takano S, Tanikawa R, Fujihara T, Atsuzawa K, Kaneko Y, Hihara Y (2023) Acylated plastoquinone is a novel neutral lipid accumulated in cyanobacteria. PNAS Nexus. 2: pgad092
- Jimbo H, Wada H (2023) Deacylation of galactolipids decomposes photosystem II dimers to enhance degradation of damaged D1 protein. Plant Physiol. 191: 87-95
- Jimbo H, Torii M, Tanase Y, Kurima K, Sato N, Wada H (2024) Acyl-turnover of acylplastoquinol enhances recovery of photodamaged PSII in *Synechosystis*. Plant J. 120: 1317-1325
- Kaczmarzyk D, Fulda M (2010) Fatty acid activation in cyanobacteria mediated by acyl-acyl carrier protein synthetase enables fatty acid recycling. Plant Physiol. 152: 1598-1610
- Kojima K, Matsumoto U, Keta S, Nakahigashi K, Ikeda K, Takatani N, Omata T, Aichi M (2022) High-light-induced stress activates lipid deacylation at the *sn*-2 position in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. Plant Cell Physiol. 63: 82-91
- Kondo M, Aoki M, Hirai K, Sagami T, Ito R, Tsuzuki M, Sato N (2023) *slr2103*, a homolog of type-2 diacylglycerol acyltransferase genes, for plastoquinone-related neutral lipid synthesis and NaCl-stress acclimatization in a cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC 6803. Front. Plant Sci. 14: 1181180
- Mori-Moriyama N, Yoshitomi T, Sato N (2023) Acyl plastoquinol is a major cyanobacterial substance that co-migrates with triacylglycerol in thin-layer chromatography. Biochem. Biophys. Res. Commun. 22: 18-26
- Mulo P, Sakurai I, Aro EM (2012) Strategies for *psbA* gene expression in cyanobacteria, green algae and higher plants: From transcription to PSII repair. Biochim. Biophys. Acta 1817: 247-257

- Murata N, Wada H, Gombos Z (1992) Modes of fatty-acid desaturation in cyanobacteria. *Plant Cell Physiol.* 33: 933-941
- Nickelsen J, Rengstl B (2013) Photosystem II assembly: from cyanobacteria to plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64: 609-635
- Takatani N, Use K, Kato A, Ikeda K, Kojima K, Aichi M, Maeda S, Omata T (2015) Essential role of acyl-ACP synthetase in acclimation of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* strain PCC 7942 to high-light conditions. *Plant Cell Physiol.* 56: 1608-1615
- Takatani N, Uenosono M, Senoo Y, Ikeda K, Aichi M, Omata T (2025) A galactolipase activated by high light helps cells acclimate to stress in cyanobacteria. *Plant Physiol.* *in press*

Deacylation of membrane lipids activated under high-light stress in cyanobacteria.

Nobuyuki Takatani¹⁾, Makiko Aichi¹⁾

1) College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University.

Abstract

Cyanobacterial membrane lipids are modified by a deacylation/reacylation cycle. We have previously shown that deacylation of the membrane lipids is activated under high-light stress conditions. However, its physiological relevance is still unknown, because (a) lipase(s) catalyzing the deacylation has not yet been identified. This review describes our search for the lipase gene in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942 and recent findings on the function of lipases in response to high-light stress in *Synechocystis* sp. PCC 6803.

Keywords : Cyanobacteria, High-light stress, Lipase, Photosynthesis