発表番号：2D027
発表日時：3 月 28 日 13:15～14:15、発表場所：ポスター会場エリア D

オミクス解析を利用した微細藻類ユーグレナのパラミロン合成・分解関連酵素遺伝子の探索
Identification of genes encoding enzymes related to paramylon metabolism in *Euglena gracilis* using omics analysis

○田中 優史[1,2]、後藤 京[1]、石川 孝博[1,2] ([1]島根大・生物資源、[2]JST/CREST)
○Yuji TANAKA[1,2], Kyo GOTO[1], Takahiro ISHIKAWA[1,2] ([1]Fac. Life Env. Sci. Shimane Univ., [2]JST/CREST)

微細藻類ユーグレナ（*Euglena gracilis*）は、好気環境下で貯蔵多糖パラミロンを合成・蓄積し、その貯蔵量は細胞の乾燥重量に対して最大約 50%にまで達する。パラミロンは、β-1,3-グルカンから成る高い結晶構造率を持った均一な顆粒（平均グルコース重合度 700）を形成しており、バイオフィルムやバイオプラスチックの原料として有用なほか、細胞内では嫌気環境下においてバイオ燃料としての利用が期待されているワックスエステル生産のための前駆体として利用されている。パラミロンは非常に強固な構造のため、*in vitro* では希アルカリ処理をしない限り酵素分解できないにもかかわらず、細胞内では嫌気や強光などのストレス環境下で容易に分解されるが、その代謝酵素やメカニズムについては未解明の問題である。
そこで本研究では、好気/嫌気に応答したパラミロンの合成/分解機構の解明を目的に、ユーグレナ発現遺伝子情報およびプロテオーム解析によるパラミロン代謝関連酵素の同定を試みた。RNA-seq 解析により、2 種類のパラミロン合成酵素候補遺伝子(PAramylon Synthase 1 と 2)を見出した。両 PAS 遺伝子は複数回膜貫通タンパク質をコードし、N 末端側にグルコシド加水分解ドメインを、C 末端側にグルカン合成ドメインを有する特徴的な構造を持っていた。二本鎖 RNA 導入による PAS の遺伝子発現抑制の結果、PAS2-knockdown 株においてパラミロンの蓄積量が著しく減少した。このことから、PAS2 がパラミロン合成を担っていることが示唆された。また、嫌気条件に応答したパラミロン分解系の解明を目的に、好気及び嫌気処理を 4 時間処理したユーグレナからパラミロン画分を調製し、この画分から可溶化したタンパク質を「パラミロン会合タンパク質」とし、これらタンパク質を nanoLC-ToF/MS により網羅的に同定・比較した。その結果、ペプチドカウント数が嫌気処理 4 時間で特異的に増加する 60 タンパク質が見いだされ、この中には endo-1,3(4)-β-glucanase が含まれていた。このグルカナーゼは Glucoside hydrolase 81 ファミリーに属しており、シグナル配列と膜貫通ドメインを持った新奇グルカナーゼであることが示された。同遺伝子の発現抑制を行った結果、嫌気処理後のパラミロン分解が有意に抑制されたことから、今回見出したグルカナーゼはパラミロン分解に関与することが強く示唆された。

microalga, glycometabolism, Euglena