

Studies on the control of step-up and step-down photophobic responses in *Euglena gracilis*

著者	Matsunaga Shigeru
内容記述	Thesis (Ph. D. in Science)--University of Tsukuba, (B), no. 1489, 1999.3.25
発行年	1999
その他のタイトル	ミドリムシ (<i>Euglena gracilis</i>) のステップアップ及びステップダウン光驚動反応の調節機構に関する研究
URL	http://hdl.handle.net/2241/5446

氏名(本籍)	まつなが しげる 松永 茂(神奈川県)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博乙第1,489号		
学位授与年月日	平成11年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
学位論文題目	Studies on the Control of Step-Up and Step-Down Photophobic Responses in <i>Euglena gracilis</i> (ミドリムシ (<i>Euglena gracilis</i>) のステップアップ及ステップダウン光驚動反応の調節機構に関する研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	堀 輝 三
副査	筑波大学教授	理学博士	井 上 勲
副査	筑波大学教授	理学博士	小 熊 讓
副査	岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研究所助教授	理学博士	渡 辺 正 勝

論文の内容の要旨

植物性鞭毛生物であるミドリムシ (*Euglena gracilis*) が光の明暗を識別する現象(広義の走光性)の機作について古くから多くの研究がなされてきた。この現象がフラビン色素を光センサーとする青色光型の光反応であること、それが光集合性の素となる step-up 反応(増光刺激時の遊泳方向転換)と光逃避の素となる step-down 反応(減光刺激時の遊泳方向転換)の2つの素反応からなること、光刺激の受容部位が鞭毛基部の膨潤部(PFB)にあること、等が現在までに明らかにされている。しかし、その制御が同一機構で行われるものか、それぞれ独立した機構によるものかという基本問題が現在も未解決である。本研究はその解明を目指して行われたものであり、その成果は以下に要約される。

1) まず、step-up 反応、step-down 反応の一方のみを誘導しうる培養条件の確立を目指し、初めてそれに成功している。細胞を従属栄養的に増殖させた後、無機培地に移すことでstep-up反応のみの誘導が可能になった。一方この無機培地にアンモニウム塩を加えると一定時間後にstep-down反応が誘導された。さらに窒素同化の阻害実験、NH₄⁺取り込み量の測定から、NH₄⁺をグルタミンへ同化する過程がstep-down反応の誘導に必須であること、加えて、タンパク質の生合成過程が必須であることの証拠を得ている。NH₄⁺は細胞の栄養様式変換において鍵の役割を果たすことが知られており、この実験の成果は光反応の転換が栄養様式の転換と同調して起こることを示している。

2) 上で述べた培養法を使って、これまで困難であった直接的に比較しうる step-up、step-down 反応の作用スペクトルの同時測定を実現した。さらにこの測定で、UV-A~青色光域に加え、UV-B/C 領域にも測定域を拡大した。その結果 step-up、step-down 反応の作用スペクトルとも、UV-B/C、UV-A、青色光にそれぞれ極大を示した。UV-B/C 領域での極大値の発見はこの分野における新発見である。2つのスペクトルの比較から明らかになった差異は、UV-A と青色光の極大の高さの逆転と UV-B/C 領域での極大波長の位置のずれであることが分かった。そこで、この結果を試薬色素の吸収スペクトルとの比較解析により、step-up 反応では flavin 色素のみが、また step-down 反応では flavin 色素と pterin 色素が光受容色素として機能していることを強く示唆した。

3) 本研究で見出した UV-B/C 領域の極大波長域(270~280nm)は芳香族アミノ酸の吸収極大の領域と重なる。そこで flavin、pterin 色素および芳香族アミノ酸の吸収スペクトルの特徴を UV-C 領域まで含めて調査したとこ

ろ、これら2つの吸収極大の高さの比が、前二者と芳香族アミノ酸とでは大きく異なることが判明した。そこで、従来の生物反応の作用スペクトル解析では考えられなかった190~300nmの極短波長の紫外波長域までシンクロトロン放射光源を使い拡大した。その結果、大型スペクトログラフによる作用スペクトルと一致する極大の他に、210nmにもう1つの極大の存在を見いだした。2つの極大の高さがほぼ等しく(UV-C:UV-B/C=1.3:1)、短波長紫外線での反応も可視光と同様に光受容色素の光吸収に起因するとの結論を得た。

4) 作用スペクトルで得た光受容色素に関する知見を検証するため、光受容体の局在部位である鞭毛基部膨潤部(PFB)の自家蛍光発光スペクトルを蛍光顕微分光法により測定した。その結果、step-up型細胞では530nmに、step-down型細胞では500nmに肩、530nmに極大のある蛍光スペクトルを検出した。530nmはflavin色素、500nmの肩はpterin色素由来と考えられるので、これらの蛍光スペクトルからもstep-up、step-down細胞間の差異は、プテリン色素の有無であることが支持される。

5) 以上の結果から、両反応の光受容体の実体について、step-up反応を引き起こすフラビン型の単一の光受容体にプテリン色素が付加されてstep-down反応がおこるといふ新しい説を提唱している。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は以前より高い関心が寄せられていながら不明だったミドリムシ(*Euglena*)のstep-up、step-down反応の光受容過程を解明するために、まず個々の光反応をそれぞれ単独に誘導できる培養条件を確立したことが高く評価できる。これを足場に2つの光反応の作用スペクトルおよび光受容体の蛍光スペクトルをそれぞれ比較することが可能になった。その結果、2つの光反応の受容体は単一のものであること、step-down反応出現時には新たな色素分子(プテリン)がこの受容体に付加されるという新見をもたらしした。上述の培養条件の確立は、従来とは一線を画するユニークなアプローチであり、この分野のこれからの研究に対して貢献するところ大である。また、本研究では、従来全く考えられることの無かった紫外線領域で起こる光信号作用についても調査しており、UV-Cなど現在の地球には存在しない紫外線がミドリムシにポジティブな信号作用を及ぼすことを、すべての光合成生物を通して初めて明らかにした。このことは得られる光受容体の分光学的な情報の量を飛躍的に増加させたとともに、進化の過程における紫外線の意味について新たな視点をもたらししたことは高く評価でき、今後他の生物の光反応研究においても取り上げられるであろう先駆的かつ重要な試行である。

著者は、得た成果をもとに、形態学や系統分類学など他分野の知見と合わせてミドリムシ生物群の進化について新しい観点からの考察を行い、この生物の明暗の選択が栄養戦略と密接に結びついていることを初めて指摘した。栄養条件にともなう光逃避から光集合への反応転換はミドリムシの栄養戦略上の利点にもよく合致すると考えられるので、ミドリムシにおける走光性の意義について、従来の考え方を大きく前進させたといえる。

よって、著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。