

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月23日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580213

研究課題名（和文）モデル水産植物スサビノリにおける補色適応の分子機構に関する研究

研究課題名（英文）Research on the molecular mechanism of the complementary chromatic adaptation in model algae *Porphyra yezoensis*

研究代表者

嵯峨 直恒（SAGA NAOTSUNE）

北海道大学・大学院水産科学研究院・教授

研究者番号：10231333

研究成果の概要（和文）：本研究は、海産紅藻スサビノリのである光合成色素タンパク質複合体フィコビリソームにおける赤色光、緑色光および青色光に対する応答機構を研究するものである。スサビノリ葉状体の色彩の変化は光色に依存的であり、可逆的に変化することから、紅藻スサビノリが補色適応能を有することが明らかとなった。また、この藻体の色彩の変化はフィコビリソーム関連遺伝子の発現制御が関わっていると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we have researched the mechanism of complementary chromatic adaptation in marine red algae *Porphyra yezoensis*. Some visually dramatic changes in pigmentation of *P.yezoensis* gametophytes that occur during changing light conditions were reversibly. Therefore it was suggested that *P.yezoensis* gametophytes have complementary chromatic adaptation ability. Moreover, it was thought that the system was regulated by the light responsiveness of genes that encode several light-harvesting proteins in *P.yezoensis*.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	0	0	0
2013年度	0	0	0
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：補色適応、光色、光合成色素、紅藻、スサビノリ

1. 研究開始当初の背景

（1）藻類および陸上植物はともに酸素発生の光合成系を葉緑体内に保持している。しかし、紅藻類と緑藻類・植物とは光合成色素やアンテナ色素の組成が異なり、特に紅藻類はシアノバクテリアと同様にフィコビリソームを持つことから、紅藻類と緑藻類・陸上植物においては共生後の葉緑体の進化過程が異なっていたと予想される。また、紅藻類の

多くが海での生育に特化していることから、フィコビリソームの存在は海中における各種環境ストレス下での光合成能の調節に不可欠なものであると考えられる。

（2）海苔の養殖産業の中で最も代表的なものはスサビノリ（*Porphyra yezoensis*）であり、わが国の水産物の中でも重要な地位を占めているが、近年は有明海の養殖海苔の白

化問題や陸上作物同様の菌類の寄生による病害などが多発している。海苔の生産力を安定させるためには紅藻類の光合成に関する研究の一層の進展が望まれる。

2. 研究の目的

(1) 紅藻類における補色適応の有無を調べ、次にその分子機構を光波長に依存した遺伝子の発現制御の解析により明らかにする。

(2) 緑色植物では解析不能な新規の環境応答機構を解明し、葉緑体あるいは核と葉緑体の協調作用の進化について理解を深め、また得られた知見の環境応答能向上へ応用する。

3. 研究の方法

(1) 葉状体における補色適応の有無の検証

本研究ではスサビノリ TU-1 株を材料とした。培養は、スサビノリ TU-1 株の葉状体を ESL 培地が入ったフラスコに入れ、水温 15°C、光量 80 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 、短日条件（明期 10 時間・暗期 14 時間）下において、白色、赤色（660 nm）、青色（470 nm）、緑色（525 nm）、暗条件（dark）の各光条件で、それぞれ通気培養した。

葉長 2 mm または 1.5 cm 程度の葉状体を水温 15°C、光量 80 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 、短日条件（明期 10 時間・暗期 14 時間）下において、白色、赤色、青色、緑色、dark の各光条件でそれぞれ通気培養し、培養開始から 7 日、14 日、21 日、28 日後に藻体の色の変化を目視、細胞レベルでそれぞれ観察し、それと併せて色素含有量測定を行った。

葉状体光合成色素含有量の測定として、クロロフィル a (Chl a)、カロテノイド (Car) は Seely et al. (1972) の方法を、PE、PC は Beer and Eshel (1985) の方法を参考にして行った。

(2) RT-PCR による遺伝子の発現解析
葉長約 1.5 cm に達した葉状体を各光色（白色、赤色、青色および dark）にて培養し、経時的に回収を行い、total RNA の抽出を行った。DNase 処理後、300 ng の total RNA を用い、PrimeScript II 1st strand cDNA Synthesis Kit (TaKaRa) または ThermoScript RT-PCR System (Invitrogen) にて逆転写反応を行い cDNA を合成した。PCR は TaKaRa LA Taq with GC Buffer (TaKaRa) または TaKaRa EX Taq (TaKaRa) を用いて行った。目的遺伝子は、スサビノリの補色適応に関わるフィコビルタンパク質（フィコエリスリン、フィコシアニン）の α および β サブユニットをコードする遺伝子をそれぞれ PE、PC とし PCR を行な

った。さらに、フィコエリスリンの γ サブユニットをコードする遺伝子を PE γ A および γ B とした。コントロールには Elf1 (transcription Elongation factor 1) 遺伝子を用いた。

4. 研究成果

(1) 葉状体における補色適応の有無の検証

1.5 cm 程度の葉状体を各光条件下で通気培養した結果、培養開始 4 日後から藻体の色と色素含有量に変化が観察され始め、培養日数が経過するにつれてその変化がより顕著にみられた。図 1 に示したように藻体の色彩は、白色光で培養したものは茶色に見えたのに対して、赤色光と緑色光で培養したものは白色光のものと比較して緑色がかって見え、青色光で培養したものは赤みがかって見えた。また、緑色光で培養した藻体の色は赤色光のものと比較して濃くなる傾向が観察された。

dark で培養したものは、藻体の色彩に変化がほとんど観察されなかったが、細胞内の葉緑体が委縮するなどの変化が観察された。各単色光で培養した藻体においても、葉緑体の委縮などがわずかに観察され、特に青色光で培養した細胞でその傾向が強くみられた。

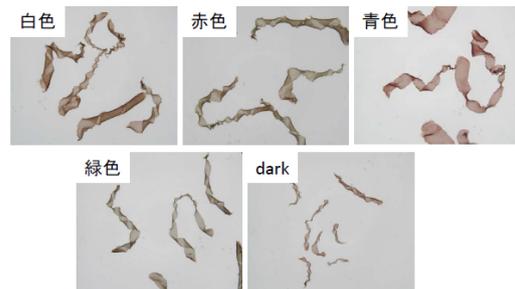


図1 各色光下で14日間培養した藻体の様子

また、各光色下で培養した藻体の色素含有量を測定した結果を図 2 に示す。PE の含有量が白色光と比較して赤色光と緑色光で減少し、青色光で増加することが確認された。PE の減少量は、緑色光と比較して赤色光でより顕著に減少する傾向がみられた。Chl a の含有量は、白色光、緑色光、赤色光、青色光の順に含有量が多い傾向にあったが、実験により傾向が異なる場合があり、明確な傾向を得ることができなかった。PC と Car の含有量は値が安定せず、光条件による含有量変化の傾向を確認することができなかった。dark で培養した藻体の各色素含有量は、値が安定しなかった。

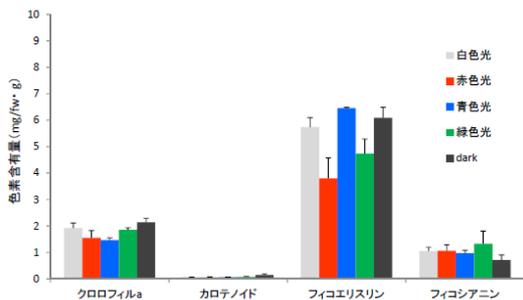


図2 各色光下で14日間培養した藻体の色素含有量

藻体の色の変化が可逆的な変化であるかを検証したところ、培養開始7日後に藻体の色と色素含有量がそれぞれシフトさせた光のものへと近づいている傾向にあることが確認され、培養開始14日後にその傾向がさらに顕著にみられた (図3)。

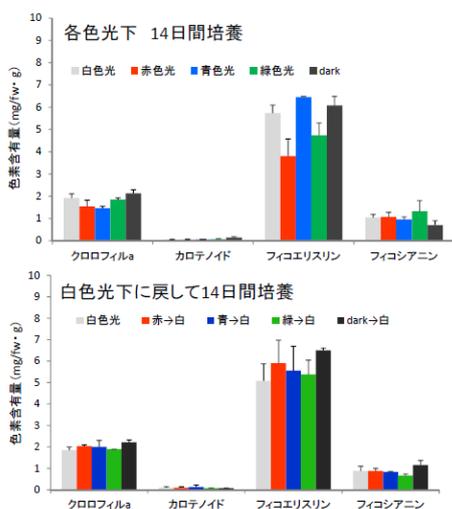


図3 各色光下で培養したものを白色光下に戻すことで、色素含有量がどのように変化するかを計測した結果

また、葉緑体の委縮なども白色光にシフトさせることで回復する傾向にあった。さらに、赤色および青色光下で培養した藻体をそれぞれの光色を交換して培養した場合も、同様に光色に応じて藻体の色彩が変化するとともに色素含有量の増減が観察された (図4)。

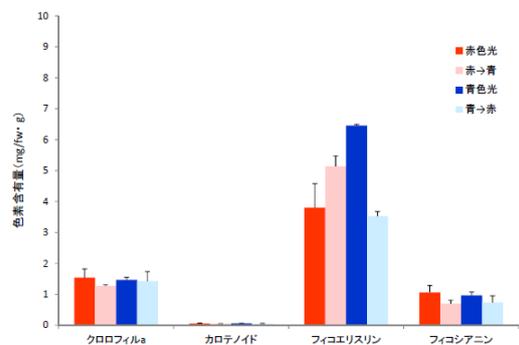


図4 赤および青色光下で培養したものを逆の光色にして、藻体の色素含有量がどう変化するかを計測した結果

以上のことから、藻体の色と色素含有量(特

に PE) の変化は光条件による可逆的な変化であることが明らかとなり、スサビノリに補色適応機構が存在することが示された。

(2) 遺伝子の発現解析

白色光下にて培養した藻体においてはいずれのフィコビリソーム関連遺伝子 (PE γ A、PE γ B、PE、PC) は光照射の時間とともに増加する傾向が見られた (図5)。

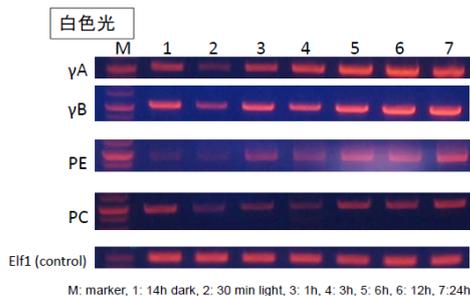


図5 白色光下にて培養した藻体を経時的にサンプリングして光合成色素関連遺伝子の発現量の変化をRT-PCR法にて解析した結果

また、LEDを用いた赤色および青色の単色光下においても同様に光照射の時間とともに発現量が増加する傾向が見られたが、赤色光または青色光で培養した藻体では、発現量が増加する時間帯に違いが見られた (図6)。具体的には、PE γ A および PE においては青色光にて培養した藻体の方が赤色光で培養したものよりも、光照射開始から早い時間帯で発現量が増加しており、PC においては赤色光にて培養した藻体の方が発現量の増加が早い時間帯で確認された。しかしながら、PE γ B については赤色光および青色光間の著しい違いは観察されなかった。

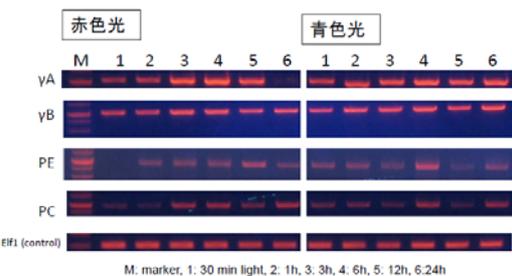


図6 赤色および青色光下にて培養した藻体を経時的にサンプリングして光合成色素関連遺伝子の発現量の変化をRT-PCR法にて解析した結果

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2件)

- Megumu Takahashi, Naotsune Saga, Koji Mikami, Photosynthesis-dependent extracellular Ca²⁺ influx triggers an asexual reproductive cycle in the marine

- red macroalga *Porphyra yezoensis*., American Journal of Plant Sciences, 査読有, 1, 2010, 1-11, DOI:10.4236/ajps.2010.11001.
- ② Megumu Takahashi, Naotsune Saga, Koji Mikami, Isolation and regeneration of transiently transformed protoplasts from gametophytic blades of the marine red alga *Porphyra yezoensis*, Electronic Journal of Biotechnology, 査読有, 2010, (online). DOI:10.2225/vol13-issue2-fulltext-7.

〔学会発表〕(計1件)

- ① 高橋潤、嵯峨直恆、三上浩司、海産大型紅藻スサビノリにおける単孢子放出機構の研究、平成22年度日本水産学会秋季大会、2010年9月22日～9月25日、京都大学吉田キャンパス

6. 研究組織

(1) 研究代表者

嵯峨 直恆 (SAGA NAOTSUNE)
北海道大学・大学院水産科学研究院・教授
研究者番号：10231333

(2) 研究分担者

三上 浩司 (MIKAMI KOJI)
北海道大学・大学院水産科学研究院・准教授
研究者番号：40222319