

1P065

緑藻とシアノバクテリアの光合成膜が示す光・栄養環境依存性の顕微蛍光スペクトル分析

○熊崎 茂一(1), 長谷川 慎(1), M. Ghoneim (1), 吉田 隆彦(1), 寺嶋 正秀(1), 池上 勇(2)

(1)京大院・理, (2)帝京大・薬

[序] 光が当たる環境で光合成による独立栄養生育を示す光合成生物の中には、暗黒中でも有機栄養に富んだ培地中で生育できることが知られている。また、暗黒中でも光合成膜を持つことがある。環境に光が回復した場合には光合成による独立栄養生育を迅速に再開するのがその生理的意義であると思われるが、暗黒中での光合成膜の性質についての理解は不十分である。我々は顕微蛍光スペクトル分析により、暗黒中有機栄養培地で生育したクロレラ（緑藻）やアナベナ（シアノバクテリア）の光合成膜の性質を光合成独立栄養生育の条件で生育した光合成膜と比較した。光合成膜の細胞内3次元分布、蛍光スペクトルの強度と形状の光感受性、細胞毎の蛍光スペクトルのばらつきについて興味深い差異を見出したのでこれらを報告する。

[実験条件] 研究室内の同一培養器中で、クロレラとアナベナ双方の明条件培養と暗培養条件培養を行った。暗培養の試料ではアルミホイルにより遮光した。細胞をスライドガラスとカバーガラスにはさんで観察対象試料とした。顕微分光分析は2光子励起型ライン走査蛍光スペクトル顕微鏡（文献1、805 nm励起）により行った。蛍光観察波長領域は600–750 nm、波長分解能約1nmで、主にフィコビルンとクロロフィルからの蛍光スペクトルが観察される。蛍光ビーズによって得られた685nmの蛍光に対する点像分布関数の半値全幅は0.39（スリット方向）、0.33（横方向）、0.59 μm （光軸）であった。

[結果と考察] 紙面の都合上、本要旨はアナベナの場合について概説し、クロレラで得られた知見は会場で説明する。明培養アナベナでは、蛍光像（図1A）により中空のチラコイド膜分布が見られた。蛍光スペクトルは隣り合う細胞の間で形状と強度が酷似している（図1B）。さらに、同一領域の蛍光を3度の3次元走査で見てもほぼ同一の強度と形状を保っていることがわかる（図1C）。これらのことは、我々のレーザー走査顕微鏡の侵襲度が非常に低いことを示している上に、アナベナの光合成膜が与えられた環境条件に応じて到達している安定で均一な光合成膜の恒常性を示している。一方、暗培養のアナベナでは、細胞の連結数が小さい上に、チラコイド膜分布の中空構造は不明瞭になっている（図2A）。蛍光スペクトルはいずれの細胞でも明培養のものに比べ長波長側で相対的強度が大きい。また、隣り合う細胞間で蛍光スペクトル形状が明瞭に異なる（図2B&C）ばかりではなく、3次元走査の繰り返しにより明らかな蛍光強度の減少を示している。暗条件下では、光合成膜は不安定な過渡状態にあり、光防御のための励起エネルギー無輻失活機能が低下しているために、レーザー照射により色素タンパク質の崩壊が進行してしまうためと考えられる。

[結語] 顕微蛍光分光分析のより光合成膜が生育環境の違いによって示す変化の多様な側面（膜局在、膜形態、構成色素タンパク質複合体の量比、光耐性機能の活動度、恒常性、過渡状態）を捉えることに成功した。今後更に顕微分光法を改良し、光合成膜が示す生理的変化の多面的解明に役立てる予定である。

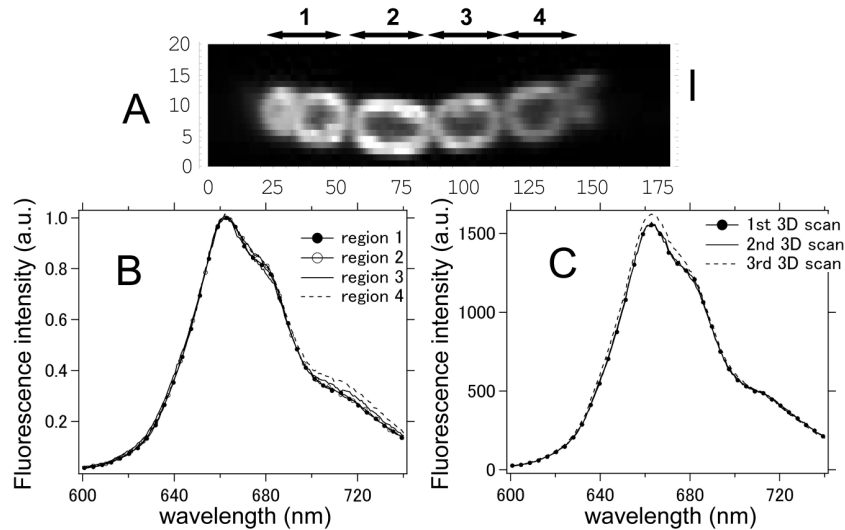


図1: 明培養アナベナの顕微観察結果 (A右のバーは2 μ m)。BはAで示された領域(細胞)ごとの局所蛍光スペクトル。Cは3回の3次元走査で得られた領域1の蛍光スペクトル。

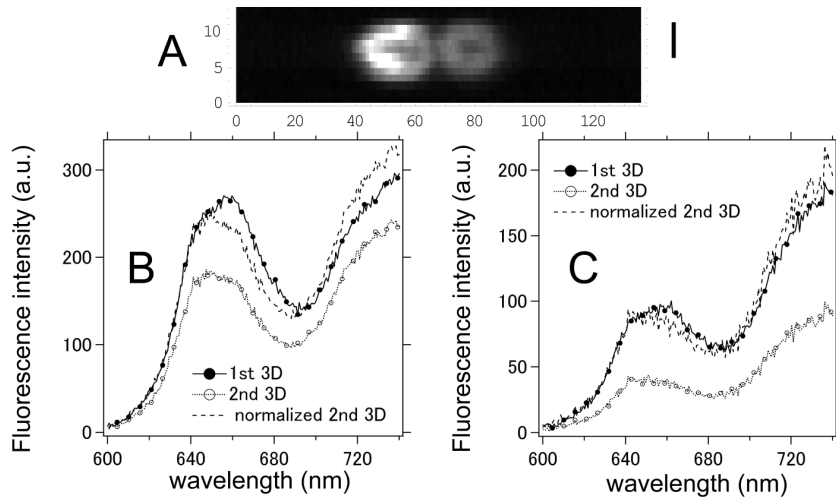


図2 暗培養アナベナの顕微観察結果 (A右のバーは2 μ m)。BはAで示された左の細胞の蛍光スペクトルで2度の3次元走査を行った結果。Cは右の細胞の蛍光スペクトルで2度の3次元走査を行った結果。

1) S. Kumazaki*, M. Hasegawa, M. Ghoneim, Y. Shimizu, K. Okamoto, M. Nishiyama, H. Oh-oka, M. Terazima, *J. Microsc.* (2007), 228, 240—254.