

氏名(本籍)	たか はし きょう こ 高橋京子(東京都)
学位の種類	理学博士
学位記番号	博乙第586号
学位授与年月日	平成2年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	<b>Effect of nitrogen starvation on phot osynthetic CO<sup>2</sup> fixation and nitrate metabolism in <i>Heterosigma akashiwo</i> (Raphidophyceae)</b> (ラフィド藻 <i>Heterosigma akashiwo</i> における光合成炭酸固定と硝酸代謝に及ぼす窒素欠乏の影響)
主査	筑波大学教授 理学博士 藤 伊 正
副査	筑波大学教授 理学博士 猪 川 倫 好
副査	筑波大学教授 理学博士 内 藤 豊
副査	筑波大学助教授 理学博士 原 慶 明

### 論 文 の 要 旨

*Heterosigma akashiwo* は、有色植物門・ラフィド藻綱に属する単細胞鞭毛藻で、系統・進化上特異な位置にあり、また、しばしば赤潮の主要構成種となることなどから分類学的にも生態学的にも極めて注目されている藻類の一種である。しかしながら、この藻を含めて有色植物門に属する藻類の光合成炭素代謝や窒素代謝に関する基礎的な研究は極めて少なく、赤潮形成の機構に関する代謝生理化学的研究は殆ど行われていない。

本研究は、*H. akashiwo* における光合成炭素代謝および窒素代謝の機構ならびにそれらの環境要因による調節機構を明らかにし、赤潮形成機構解明の手がかりを得ることを目的としたものであり、4章から成る。

- 1) 第一章では、硝酸塩を十分に与えた培養細胞の光合成<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>固定産物の解析結果に基づき、本藻は炭素還元回路によりCO<sub>2</sub>固定を行い、貯蔵産物は80%メタノール可溶性β-1,3-グルカンであること、近縁の藻類に比べCO<sub>2</sub>に対する親和性は高く、高い光合成CO<sub>2</sub>固定能を有し、強光・高酸素濃度下でも光合成阻害はみられず、赤潮形成に有利な種々の光合成特性を有することを明らかにしている。
- 2) 第二章では、硝酸塩を十分に与えて培養した日周鉛直移動をする細胞(N-enriched cell)と、硝酸塩を制限して培養し、日周鉛直移動をしない細胞(N-starved cell)を用い、光合成<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>固定後、明および暗条件下で<sup>14</sup>Cの行方を追跡するパルス・チェイス実験を行い、窒素欠乏状態になると、光合成は抑制され、照射下でも貯蔵多糖が分解され有機酸やアミノ酸等を生成する異化

的代謝が促進されることを明らかにしている。

- 3) 第三章では、12時間明-12時間暗に光周期で培養中の N-enriched cell および N-starved cell を一定時間毎に採取し、光合成<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>固定により潜在光合成活性を求め、N-enriched cell の潜在光合成活性は明期の中期に量大となり暗期の中期に最小となる日周変動を示し、細胞の日周鉛直移動のリズムと強い相関を示すことを明らかにしている。さらに<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>固定産物の解析結果から、明期前半における光合成 CO<sub>2</sub>固定は細胞内に硝酸塩が十分供給された環境下で行われ、明期後半においては、培地中に硝酸塩が十分存在する環境下であっても、細胞内へ窒素源を取り込む能力が急速に低下することにより細胞内が窒素欠乏状態へと移行し、明期前半とは異なる炭素代謝が進行していることを明らかにしている。
- 4) 第四章では、細胞内の窒素環境の変化をもたらす要因を明らかにするため、N-enriched cell と N-starved cell における7種の窒素代謝関連酵素すなわち硝酸還元酵素、亜硝酸還元酵素、グルタミン合成酵素、グルタミン酸合成酵素、NADH-及びNADPH-依存グルタミン酸脱水素酵素とグルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼについて光周期に伴う活性変動を調べ、硝酸還元酵素が最も顕著な日周変動を示し、硝酸還元が始まる一連の窒素代謝の最も重要な制限因子として機能していることを明らかにしている。また、この酵素の日周変動のリズムが潜在光合成活性や細胞の鉛直移動の変動のリズムとよく一致していることから、明期後半にみられる潜在光合成活性の低下は、主として硝酸還元酵素活性の低下により細胞内に窒素欠乏状態がもたらされることによると推定し、この酵素活性の変動が鉛直移動の日周性に深く関わっていることを示唆している。さらに、硝酸還元酵素活性の日周変動の機構について検討し、長期にわたり顕著な日周変動を継続するためには、光合成炭素代謝産物供給のための明期と一定時間(約6時間)以上の暗期の周期が繰り返されることが必要であること、酵素活性の変動は酵素タンパク質に do novo 合成と分解によるほか、酵素活性のリズムと強い相関をもって日周変動するプロテアーゼ活性をもたない硝酸還元酵素不活性化因子の関与のもとに行われることを明らかにしている。

## 審 査 の 要 旨

光合成炭素代謝や窒素代謝に関する研究は、従来高等動物や一部の緑藻・藍藻などについて行われ、これらとは門のレベルで異なるラフィド藻綱に属する藻類についての研究は極めて乏しく、特に赤潮を形成する藻類については、生態学的にもきわめて重要であるにも拘らず殆ど明らかにされていなかった。本研究によって、赤潮の主要構成種である *Heterosigma akashiwo* の光合成炭素代謝経路並びに種々の光合成特性が明らかにされ、赤潮形成に有利な特性をもつことが示された。また、潜在光合成活性の日周変動に窒素代謝、特に硝酸還元酵素活性の日周変動が要因となっていることを指摘した。さらに赤潮形成と密接な関係があると示唆されている細胞の日周鉛直移動のリズムと硝酸還元酵素活性の変動のリズムに極めて強い正の相関があることを見だし、この酵素活性の日周変動をもたらす機構についても、酵素タンパク質の合成・分解のほか酵素活性の日周変動のリズ

ムと負の相関をもって変動する硝酸還元酵素不活性化因子の存在を明らかにする等多くの新たな知見をもたらした。これらの業績は、赤潮形成機構解明への手がかりを与えるとともに、代謝生理化学の分野のみならず、系統分類学や水圏生態学の分野の発展にも大いに寄与するものと評価される。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。