紅色酵母における光生物現象発現機構の解明 —紫外光による K⁺排出の制御機構—

正会員 秦

恵 (岡山大学)

Study on Photobiological Response in the Yeast *Rhodotorula*-Mechanism of K⁺efflux induced by UV-irradiation

Member Megumi Hada (Okayama University)

KEYWORDS : Yeast, UV-B, K⁺-efflux, Action spectrum

1. はじめに

フロンガスの放散による成層圏オゾン層の破壊とB領域紫外光(UV-B)の増大とそれに伴う生物の障害が懸念されて久しいが、UV-Bは多くの高等植物や菌類に様々な障害を与える他、光形態形成を引き起こすことが知られている¹⁾。その際、細胞膜がUV-Bのターゲットの一つとなる²⁾。これまでに、強光下で起こる膜の透過障壁能の損傷の他に、弱光下で特異的な生理学反応が起こることが細菌や高等植物の細胞では報告されているが^{3,4)}、菌類ではそのような研究は少ない。また、その光受容体やそれに関連する反応に対する知見は極めて少ない。我々は、UV-B照射によってカロチノイド合成が誘導される⁵⁾紅色酵母 *Rhodotorula minuta* において、UV-B照射のイオン輸送系に及ぼす影響を調べたところ、UV-BによってK⁺が特異的に排出される現象を見出した。そこで光とK⁺排出の関係を明らかにすることを目的として、その光量および波長依存性を詳細に調べ、作用スペクトルを求めた。

2. 紫外光照射による K⁺排出

暗所で培養した菌体を蒸留水に懸濁し、UV-B(東芝健康線ランプ)を照射し、Na⁺, K⁺の細胞内への取り込みおよび細胞からの排出を、外液のイオン濃度変化によって調べた。イオンの定量は、イオンクロマトグラフィーまたは原子吸光を用いた。図1に示すように、UV-B照射によりK⁺の細胞外への排出が観察された。この排出は、照射開始後およそ10分のlagタイムで起こり、排出量は照射光量に依存した。K⁺排出は照射中にのみ起こり、照射をやめると速やかに止まった。この現象はK⁺に特異的であり、Na⁺では見られなかった。このとき糖、アミノ酸の細胞からの漏出は見られなかった。またこの現象は、呼吸に依存しなかった。外液の温度が26℃と4℃でK⁺排出を比較したが、これらの温度では差がなかった。外液のpHが5.5から8.0の範囲では、pHの影響を受けなかった。青色光とUV-B光の同時照射を行ったが、UV-B単独で照射したときと差がなかった。このK⁺排出は、UV-A(東芝ブラックライト)の照射によっても引き起こされた。しかし、K⁺排出を引き起こすのに要する光量は、UV-AとUV-Bでは大きな差があった。

3. 作用スペクトル

K⁺排出に有効な波長を調べるため、単色光照射での光量-反応

曲線の作成を試みた。暗所で培養した菌体を蒸留水に懸濁し、シャーレに移し、ラップフィルムで被った後、基礎生物学研究所大型スペクトログラフを用いて上方より250~400nmの単色光を様々なエネルギー量で照射した。照射した個々の単色光については照射光強度を測定し、被照射試料の透過率から算出した補正係数と照射時間から平均入射光量を求めた。370nmより長波長側では、K⁺の排出は起こらなかった。250~300nmの波長域の適当な光量範囲においては、図2に示すように互いにほぼ平行な入射光量-反応曲線が得られた。この結果から得られた作用スペクトルは、270nmにピークを持つ曲線を示した(図3)。この菌のカロチノイド合成に対する作用スペクトルはすでに報告されているが⁶⁾、両反応で得られた作用スペクトルの形は、非常によく似ていた。

5. まとめ

本実験において、酸素と温度に依存せず、光に依存するK⁺の排出機構が存在することが示された。この現象は、Na⁺や、アミノ酸、

図1 UV-B照射によるK⁺の排出

図2 K⁺排出における入射光量一反応曲線。
図中の数字は照射した単色光の波長 (nm)

図3 K⁺排出の作用スペクトル

光との同時照射を行っても UV-B 光のみの時と差がなかったこと等の結果と考えあわせると、DNA 損傷というよりは270~280 nm 付近に吸収を持つ光受容体の存在が示唆される。また、カロチノイド合成の作用スペクトルと似ていることから、これらの両反応は、同一の光受容体が関与している可能性も考えられる。

本研究の遂行に対し与えられた学会の研究助成に謝意を表す。

参考文献

- (1) M. Tevini and A.H. Teramura, UV-B effects on terrestrial plants, *Photochem. Photobiol.*, 50, pp.479 (1989)
- (2) T.M. Murphy, Membranes as targets of ultraviolet radiation, *Physiol. Plant.*, 58, pp.381 (1983)
- (3) R.C. Sharma and J. Jagger, Ultraviolet (254-405nm) action spectrum and kinetic studies of alanine uptake in *Escherichia coli* B/r, *Photochem. Photobiol.*, 33, pp.173 (1981)
- (4) T.M. Murphy and C. Wilson, UV-stimulated K⁺ efflux from rose cells, *Plant Physiol.*, 70, pp.709 (1982)
- (5) M. Tada, M. Watanabe and Y. Tada, Mechanism of photoregulated carotenogenesis in *Rhodotorula minuta* VII. Action spectrum for photoinduced carotenogenesis, *Plant Cell Physiol.*, 31 pp.241 (1990)
- (6) M. Hada, M. Tada and T. Hashimoto, UVB induced absorbance change in the yeast *Rhodotorula minuta*, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 17, pp.127 (1993)

公表大会名 1) M. Hada, R. Tatsumi, M. Tada, T. Hashimoto: Action spectrum for K⁺ efflux in yeast *Rhodotorula*, XV International Biological Congress, Tokyo p.472 (1993)
2) 秦恵, 多田幹郎: UV-B 照射の紅色酵母 *Rhodotorula* 細胞膜機能への影響, 日本植物生理学会1994年度年会, p.184 (1993)
3) 秦, 辰巳, 加藤, 荒見, 多田: 紅色酵母における光生物現象の解明—K⁺排出の波長依存性, 照明学会全国大会, p.332 (1994) 掲載論文名 4) M. Hada, M. Tada, T. Hashimoto: UVB-induced efflux of potassium from yeast *Rhodotorula minuta* cells, *J. of Photochemistry and Photobiology, B: Biology*, 21, p. 77 (1993)

糖の漏出が見られない状態でも観察されたことから、UV-B による膜の損傷による漏出ではなく、K⁺チャンネルの関与が示唆される。

しかしすでに報告しているように、同じ菌体で UV-B 照射により細胞膜エルゴステロールの分解が起こる⁶⁾。K⁺排出はエルゴステロールの分解に起因する可能性も考えられる。しかしこの K⁺排出は照射中にのみおこり、照射をやめると速やかに停止する。もしエルゴステロールの分解とこの K⁺排出が関与しているのなら、分解されたエルゴステロールは、非常に早く再生される必要がある。エルゴステロールの分解と K⁺排出の関係については、今後さらに検討を要する。

得られた K⁺排出の作用スペクトルは、270nm 付近にピークを持ち、非常にシャープな波長依存性を示した。この形より DNA 損傷が関与している可能性も考えられるが、この現象は照射中にのみ起こり照射を止めると非常に速やかに反応が止まること、青色