

氏 名	佐 藤 文 彦 き とう ふみ ひこ
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 949 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	PHOTOAUTOTROPHISM IN CULTURED PLANT CELLS (植物培養細胞の光独立栄養性)
論文調査委員	(主 査) 教 授 高 橋 英 一 教 授 山 田 秀 明 教 授 葛 西 善 三 郎

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は植物培養細胞の光独立栄養培養方法の確立とその細胞の特性を知ることを目的として行った研究の成果をまとめたもので、以下の8章からなっている。

第1章では、多数の植物種について明所下でカルス誘導を行い、その中から緑化度の高いものを選抜培養することにより、いままでにない高い葉緑素含量の緑化培養細胞が得られたことを述べている。

第2章では、タバコ、エニシダ緑化培養細胞は空気中の炭酸ガス濃度を1%に富化することにより光独立栄養的に生育し得ることを述べている。

第3章では緑化培養細胞の炭酸同化能について検討を加え、タバコ、エニシダでは炭酸ガスを与えると光照射下で活ばつに酸素を発生するが、キハダの酸素発生は微弱であり、これはキハダ緑化培養細胞の光化学系IIの活性の低いことが主な原因であることを推察している。

第4章では光独立栄養細胞の選抜方法として、糖を除いた Linsmaier-Skoog の寒天培地上に葉組織を置床し、3000-5000 lux の照明下で、1%炭酸ガスを含む空気を通気して培養する方法が有効であることを明らかにしている。

第5章では光独立栄養培養法の改良について検討し、Linsmaier-Skoog 培地のリン酸濃度を4倍に高めること、オーキシン濃度を低下させることが有効であることを明らかにしている。

第6章ではタバコ緑化培養細胞の明所下での放射性炭酸ガスの同化について検討している。その結果リングリセリン酸、糖リン酸などのカルビン回路初期固定産物のほか、リンゴ酸、アスパラギン酸などのハッチスラック回路の中間産物への高い放射能とりこみをもとめ、明所下で C₄ ジカルボン酸への炭酸固定の促進がおこっていることを推察している。

第7章では、明所下で放射性炭酸ガスのリンゴ酸への高いとりこみがみとめられたタバコ及びエニシダ緑化培養細胞の炭酸固定系酵素の活性をしらべた結果、RuBP カルボキラーゼにくらべて2ないし4倍高い PEP カルボキシラーゼ活性をみとめ、これが明所下における C₄ ジカルボン酸への高い炭酸固定の一

因であることと推測している。

第8章では、タバコ緑化培養細胞のジャーファメンターによる大量培養方法について検討を行い、炭酸ガスを1%に富化するとともに、窒素ガスで酸素分圧を14%に下げた空気を通気することによって、光独立栄養培養が可能なことを明らかにしている。

論文審査の結果の要旨

近年植物の細胞培養は生物科学の基礎と応用の両面における極めて有用な研究手段になってきている。植物は従属栄養を営む微生物や動物とことなり、光独立栄養性をもっているため、培養にあたってはこの能力を十分に発揮させることが望まれる。しかし、植物培養細胞を緑化せしめ、かつ光独立栄養を営ませることは必ずしも容易でなく、培養にあたって有機炭素源が与えられているのが現状である。本研究は有用物質生産の上でも興味深い数種類の植物培養細胞を供試し、それが光独立栄養的に培養できる条件について探求し、その結果得られた光独立栄養培養細胞の特性について検討を加えたものである。

培養条件としては緑化に促進的にはたらく培地のホルモン条件の改良、緑化の進んだ培養細胞の選抜培養、炭酸ガスの富化、無機栄養条件の改良などによって、タバコ、エニシダ緑化培養細胞を十数代にわたって光独立栄養的に生育せしめることに成功した。さらにタバコ緑化培養細胞のジャーファメンターによる大量培養法について検討し、炭酸ガス富化、低酸素分圧条件下におくことにより光独立栄養培養が可能であることを示した。

また、光独立栄養培養細胞の性質について検討した結果、興味深い知見を得ている。すなわち供試した緑化培養細胞のうち、キハダは高い葉緑素含量をもつにもかかわらず光独立栄養的に生育しなかった。その原因をしらべたところ光化学系IIの活性の弱いことをみだし、光独立栄養的培養の可否の判定には葉緑素含量によるだけでなく、直接的な光合成活性の測定の必要なことを指摘した。

また光独立栄養が可能なタバコ、エニシダ両緑化細胞の明所下での炭酸ガスのとりこみをしらべたところ、 C_3 -植物の光合成で通常みとめられるカルビン回路の代謝産物のほかに、リンゴ酸などの C_4 ジカルボン酸への極めて高いとりこみがあり、また RuBP カルボキシラーゼのほかに高い PEP カルボキシラーゼ活性を有するなど、これらの緑化培養細胞には特徴的な代謝系の存在することを明らかにした。

以上のように本論文は従来極めて困難とされていた植物細胞の光独立栄養培養にはじめて成功し、その培養条件ならびに方法を明らかにした。さらに光独立栄養培養細胞の炭酸固定産物ならびにそれに関与する酵素が非常に特徴的であるなど、数多くの興味ある知見を得ており、これらの業績は植物生理学および植物細胞培養技術開発に貢献するところが大きい。

よって本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。