

クラミドモナス走光性における眼点カロテノイドの役割

若林憲一, 植木紀子*, 井手隆広#

東京工業大学科学技術創成研究院化学生命科学研究所

〒226-8503 横浜市緑区長津田町 4259 番地 R1-7

(*現所属: ニューヨーク市立大学ブルックリン校)

(#現所属: 理化学研究所 生命機能科学研究センター 〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 2-2-3)

Ken-ichi Wakabayashi, Noriko Ueki*, Takahiro Ide#

Carotenoids for phototaxis in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*

Keywords: carotenoids, *Chlamydomonas*, eyespot, flagella, phototaxis

Laboratory for Chemistry and Life Science, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, Nagatsuta-cho 4259-R1-7, Midori-ku, Yokohama 226-8503, JAPAN

(*Present address: Brooklyn College, The City University of New York, 2900 Bedford Avenue, Brooklyn, NY 11210, USA)

(#Present address: RIKEN, Center for Biosystems Dynamics Research, 2-2-3 Minatojima-minamimachi, Kobe-shi, Hyogo 650-0047, JAPAN)

DOI: 10.24480/bsj-review.9b6.00138

1. はじめに

我々の研究グループは、単細胞緑藻クラミドモナスを用いて真核生物鞭毛の運動制御機構の解明に取り組んでいる。カロテノイド研究の特集号には場違いな著者かもしれない。クラミドモナスは、光を受容した後に鞭毛運動様式を変化させ、走光性などの光反応行動を示す。我々は、この光反応行動時の鞭毛運動調節機構を探る目的で、走光性異常の変異株を精力的にスクリーニングしている。その過程で、偶然にもカロテノイド生合成経路の酵素の変異株を単離した。本稿ではその変異株の解析から分かった、クラミドモナスの光受容におけるカロテノイド色素の重要性について解説する。

2. クラミドモナスの走光性

2-1. クラミドモナス

クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii* 和名コナミドリムシ) は、淡水に棲む

単細胞性の緑藻である（図1）。細胞体は核を避けるような形状のカップ型葉緑体ではぼ満たされており、その赤道面付近には眼点と呼ばれる光受容装置が存在する。そして、2本の鞭毛を人間の平泳ぎのように動かして水中を泳ぐ。

この生物は実験材料としてさまざまな特長を持つ。まず、通常は一倍体で無性的に増殖するため、突然変異株の単離が容易にできる。一方で、2つの接合型を持ち、窒素源飢餓などによって有性生殖を誘導できる。このため、古典遺伝学的な解析（四分子解析）が可能である。さらに、無菌的な培養が容易であり、その培養スケールも数十リットル程度まで増やすことができる。この他、全ゲノムが解読済みであること、遺伝子導入が可能であることなどの多くの利点から、クラミドモナスは鞭毛運動、光合成、光反応行動、有性生殖など、幅広い研究分野でモデル生物と見なされている。

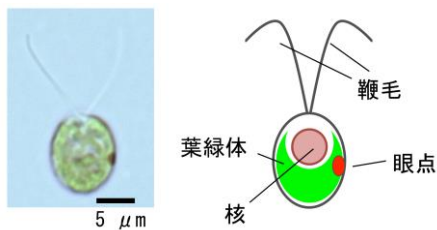


図1 クラミドモナスの明視野顕微鏡像（左）と模式図（右）。

2-2. 眼点とカロテノイド色素

クラミドモナスの眼点は高い指向性を持った光受容を行う。その仕組みは眼点の構造を見るとよく分かる（図2）(Boyd et al., 2011; Dieckmann, 2003)。眼点は細胞膜上に存在する光受容タンパク質チャンネルロドプシンと、それを裏打ちする色素顆粒層から成る。光学顕微鏡で見ると眼点が赤く見えるのは、この顆粒にカロテノイド（主としてβカロテンとルテイン）が含まれているためである(Eichenberger et al., 1986; Niyogi et al., 1997)。このカロテノイド色素顆粒は空隙を挟んで2～3層を成している。屈折率の異なる物質から成る積層は、光学の分野で四分の一波長板と呼ばれる光反射板として機能する(Foster and Smyth, 1980; Morel-Laurens and Feinleib, 1983)。そしてその直上の細胞膜にチャンネルロドプシンが局在している。

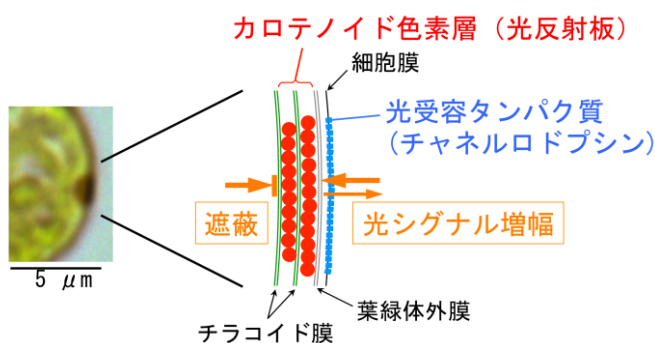


図2 眼点の模式図。カロテノイド色素顆粒が層を成し、光反射板の役割を担う。その直上の細胞膜にチャンネルロドプシンが局在する。

チャンネルロドプシンは光受容に応じて陽イオンを透過する光駆動型陽イオンチャンネルである(Nagel et al., 2002; Nagel et al., 2003; Sineshchekov et al., 2002; Suzuki et al., 2003)。眼点には主としてチャンネルロドプシン 1 とチャンネルロドプシン 2 の 2 種が存在しており、ノックダウン実験の結果から、後述する光反応行動の際には主としてチャンネルロドプシン 1 が機能していると考えられている(Berthold et al., 2008)。(なお近年隆盛を誇る光遺伝学の分野を支えているのはチャンネルロドプシン 2 の改変タンパク質である(Deisseroth et al., 2006; Zhang et al., 2006)。

このカロテノイド層とチャンネルロドプシンの相対的位置から、眼点の高指向性光受容が説明できる。細胞の外から入射した光は、カロテノイド層での反射によりチャンネルロドプシンを 2 度通り、光シグナルが増幅する。一方で、細胞の内側から入射した光はカロテノイド層によって反射されるため、約 8 分の 1 程度しかチャンネルロドプシンに到達できない(吉村, 2009)。また、チャンネルロドプシンの吸収極大波長は約 500 nm 前後の青緑色である(Hegemann and Berthold, 2009)。カロテノイド層の厚さから計算される反射波長域も 340 nm~560 nm とその範囲をカバーしている(Schaller and Uhl, 1997)(吉村, 2009)。眼点のカロテノイド層とチャンネルロドプシンは、クラミドモナスの光受容のために洗練された組み合わせであると言える。

2-3. 光反応行動

眼点における光受容を利用して、クラミドモナスは主として 2 つの光反応行動を示す(図 3)。1 つは走光性である。クラミドモナスは通常 2 本の鞭毛を平泳ぎのようにして動かす。それぞれの鞭毛の打つ面は完全には平面的でなくやや 3 次元的であり、かつ 2 つの鞭毛の打つ面も一致しておらず互いに少しずれている。そのため細胞は、遊泳方向後方から見て反時計回りに自転しながら泳ぐ(Isogai et al., 2000)。このことと高指向性光受容の組み合わせによって、一定強度の光環境下にいたとしても、細胞は遊泳時に「明るい~暗い」という光強度の変動を感じる。このことで、まるでレーダーのように光源方向を正確に察知することができるのである。さらに、光受容後に起

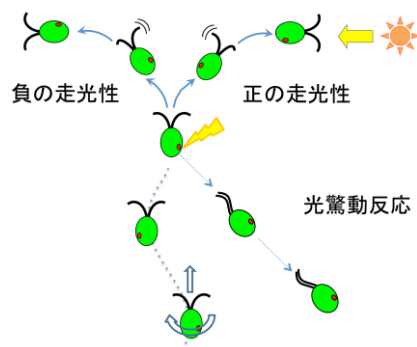


図 3 光行動の模式図。連続的な光照射を感じると 2 本の鞭毛の打つバランスを変えて正または負の走光性を示す。急激な光強度変化を感じると鞭毛の運動波形を変化させて光驚動反応を示す。

こる細胞へのカルシウムイオンの流入をシグナルとして、2本の鞭毛の打つ強さのバランスが少し変化する(Kamiya and Witman, 1984)。2本の鞭毛は眼点に近い側のシス鞭毛と遠い側のトランス鞭毛に区別され、これらの間にはカルシウムイオンの感受性に違いがある。概ね 10^{-7} M を境にして、これより低いとシス鞭毛が、高いとトランス鞭毛がそれぞれ他方よりも強く打つ。これによって細胞は遊泳方向を変化させ、光源方向に向かう正の走光性か、逆に光源から逃げる負の走光性のどちらかを示す。

2つ目は光驚動反応である。これは急激な大きい光強度差を眼点を感じたとき（たとえば日陰から日向に出たとき）に、鞭毛波形を一時的に変えて、後退遊泳するという行動である。これはカルシウムイオン濃度が 10^{-4} M 程度まで上昇すると起きる反応である(Bessen et al., 1980; Hyams and Borisy, 1978)。このようにクラミドモナスは、感受した光に応じて鞭毛運動を巧みに調節することで、光合成に最適な「強すぎず、弱すぎない」光条件下で棲息できる。

2-4. 走光性符号の切り替え調節

クラミドモナスの走光性の正負の符号切り替え研究の歴史は古く、これまでに光強度、概日リズム、外液のイオン強度、cAMPなどが符号に影響を与えると示されてきた(Boonyareth et al., 2009; Feinleib and Curry, 1971; Kondo et al., 1991; Morel-Laurens, 1987)。しかし、決定的な因子は見つかっていなかった。興味深いことに、Takahashi と Watanabe は光合成阻害剤処理によって走光性が正に偏ることを明らかにした(Takahashi and Watanabe, 1993)。走光性は光合成のための光条件最適化行動だと考えられていたが、この実験により初めて走光性と光合成という2つの現象がつながった。しかし、光合成によって変化するどのような因子が符号を切り替えているのかは謎のままであった。

我々はこれとは別の方向から走光性符号調節シグナルの解明に至った。鞭毛を動かすモータータンパク質の1つ外腕ダイニンには、酸化還元タンパク質であるチオレドキシンの軽鎖が存在する(Patel-King et al., 1996)。また、鞭毛プロテオームデータベースによれば、鞭毛内にはリンゴ酸脱水素酵素や細胞質型チオレドキシニンなど、複数の酸化還元関連酵素が局在する(Pazour et al., 2005)。さらに、鞭毛の運動様式は細胞内酸化還元状態に応じて変化する(Wakabayashi and King, 2006)。これらのことに着想を得て、我々は走光性の符号を切り替える因子は「細胞内酸化還元状態」であることを見出した(Wakabayashi et al., 2011)。クラミドモナスは、細胞内が酸化的になると正、逆に還元的になると負の走光性を示すのである(図4)。還元力を取り出す反応である光合成は、細胞内の酸化還元状態を大きく変える。つまりクラミドモナスは、細胞内酸

化還元状態を指標にして自らの光合成活性をモニターし、より光を浴びるべきなのか、光を避けるべきなのかを「判断」という、高度な生存戦略をもっていると考えられる。最近ではこの発見を利用し、光合成効率の高い突然変異株のスクリーニングも行われている(Kim et al., 2016)。

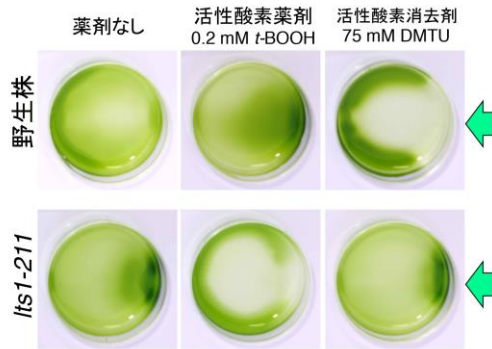


図4 クラミドモナスの走光性の検定。培養液をペトリディッシュに入れ、右側から光を当てた。野生株は活性酸素薬剤処理で正、活性酸素消去剤処理で負の走光性を示す。*lts1-211* 変異株は野生株と逆符号の走光性を示す。(Ueki et al., 2016)より引用して改変。)

3. 走光性における眼点カロテノイドの重要性

3-1. 走光性符号逆転変異株 *lts1-211* の単離

クラミドモナスの走光性符号は細胞内酸化還元状態が切り替えていると分かった。しかし、その分子メカニズムは分からない。このような未知の現象を解明するアプローチには順遺伝学がよくフィットする。我々はクラミドモナス野生株にランダムに変異を導入し、得られた変異株ライブラリに対して酸化・還元処理を行い、走光性の符号を確かめた。その結果、野生株と逆方向に泳ぐ変異株 *lts1-211* を単離した(Ueki et al., 2016)。この株は、細胞内が酸化的になると負、還元的になると正というように、野生株と反対符号の走光性を示す。

クラミドモナスを用いる利点の1つは、変異遺伝子の同定に古典遺伝学が適用できることである。*lts1-211* 株と、配列多型を持つクラミドモナス S1D2 株を掛け合わせ、得られた子孫株に対して PCR 多型を用いた AFLP 解析を行った。これにより、変異が2番染色体の 131 kbp の範囲に絞られた。しかし、その範囲にはまだ 15 個程度の遺伝子が存在する。

そこで我々はさらに、Illumina HiSeq2000 を用いて *lts1-211* 株とその親株である野生株の全ゲノムシーケンスを行い、比較解析を行った。両者の間には 3,000 以上の SNPs が存在した。しかし、上記の範囲には 1 箇所しか変異が存在しなかった。それがフィトエン合成酵素の活性ドメインの 1 アミノ酸置換であった。古典遺伝学と次世代型シーケンスはそれぞれ強力ではあるが、それだけではすぐには遺伝子同定に至らない。これらを組み合わせることで、迅速な変異遺伝子同定につながった。

3-2. *lts1-211* 変異株の眼点

フィトエン合成酵素は、カロテノイド生合成経路における重要な酵素であり、これまで複数の機能欠損株が得られている (図5)。それらの株は”white mutants”と呼ばれることからわかるように色素をほぼ失っており、明条件では培養することができない (McCarthy et al., 2004)。一方で、我々が単離した *lts1-211* は明条件でも培養でき、培養液の見た目ではほとんど野生株と区別がつかない。βカロテンやルテインといったカロテノイド色素の量は激減しているが、光の下での生存には支障がない (図5)。

しかし、顕微鏡で観察すると、*lts1-211* は眼点の色素を失っていることがわかった (図5)。野生株では細胞の赤道面付近に確認できる眼点の赤い点が見られない。*lts1-211* は逆符号ではあるものの走光性を示し、光驚動反応も正常に示すため、チャンネルロドプシンには異常がなく、あくまでカロテノイド色素顆粒層から色素だけが抜けていると考えられる。

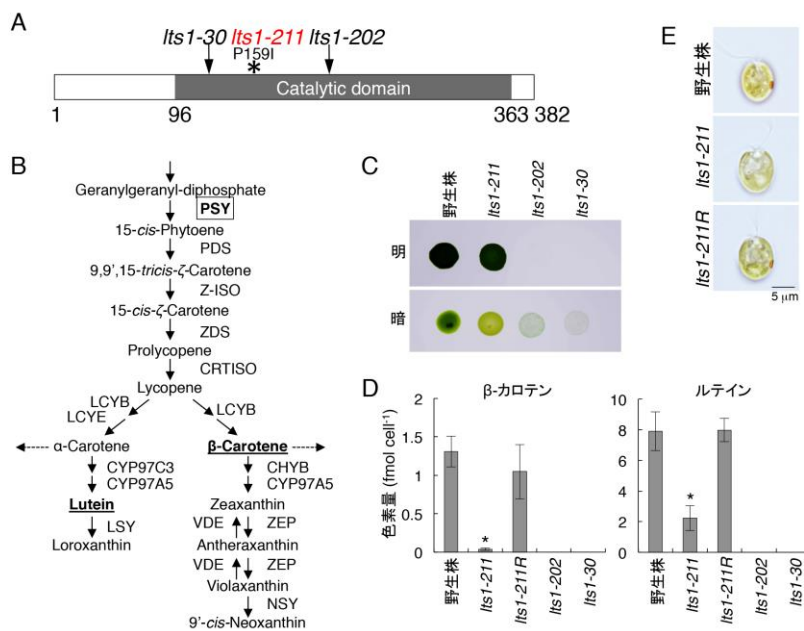


図5 (A)フィトエン合成酵素遺伝子の模式図。*lts1-30*株と*lts1-202*株では矢印の位置に終始コドンが、*lts1-211*株では*の位置に1アミノ酸置換が生じている。(B)カロテノイド生合成経路の概略。フィトエン合成酵素はPSYと示

す。(C)*lts1*変異株を寒天培地で培養した様子。*lts1-30*株と*lts1-202*株は明条件では致死、暗条件で白いコロニーを形成する。(D)細胞あたりのβカロテンとルテインの定量。*lts1-211*株では減少し、ここに野生型フィトエン合成酵素遺伝子を導入した*lts1-211R*株では色素量が回復する。(E)*lts1-211*株は眼点のオレンジ色が見られない。(Ueki et al., 2016)より引用して改変。)

3-3. 細胞レンズ効果

眼点への色素の局在に異常のある変異株はこれまで複数単離されているが、走光性を示さない、あるいは弱い(強い光を照射しないと示さない)と報告されている

(Morel-Laurens and Feinleib, 1983; Roberts et al., 2001)。これは、光反射板であるカロテノイド色素層を失っているために、細胞が光照射方向を認識できないためと説明されている。しかし *lts1-211* は、逆符号ではあるものの、弱い光に対しても走光性は示している。そこで、まず既存の眼点色素欠損変異株 *eye1~eye3* の3株の走光性を酸化還元薬剤を用いて再検討した。その結果、どの株も *lts1-211* と同様に野生株と逆符号の走光性を示した。つまり、*lts1-211* の表現型はフィトエン合成酵素の異常が理由ではなく、その結果として眼点に色素が蓄積しないことが直接の理由であると分かった。

では、なぜ眼点に色素がないと逆符号の走光性になるのか。我々は模索の末、「細胞レンズ効果」に行き着いた(図6)。細胞レンズ効果とは、楕円体状の細胞が凸レンズとして機能し、集光することである。細胞の側方、眼点の反対側から光が入射した場合を考えてみる。カロテノイド色素層があれば、仮に細胞がレンズとして機能したとしても、集まった光はチャンネルロドプシンの手前で遮蔽されるため、細胞は「暗い」と感じる。しかし、このとき *lts1-211* のように色素がないと、チャンネルロドプシンは直接浴びるよりも強い光を受容することになる(図6)。光受容後の反応経路の下流が野生株と同じであれば、野生株が正の走光性を示す際に色素欠損株は負の走光性を示すだろう。

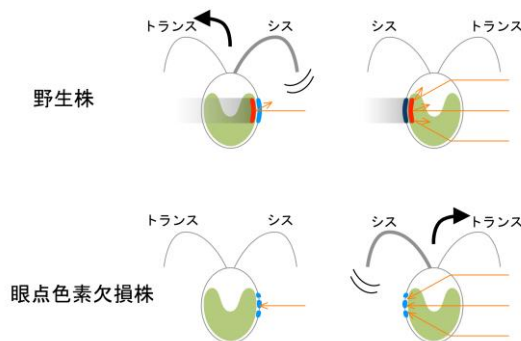


図6 細胞レンズ効果の説明。細胞が凸レンズのように振る舞った場合、眼点色素欠損株はチャンネルロドプシン(水色)が光源と反対側を向いているときのほうが光源側を向いているときよりも強い光を感じるため、光源方向を間違えて認識する。

((Ueki et al., 2016)より引用して改変。)

クラミドモナス細胞が凸レンズとして振る舞うか否かは以前から議論があった。Sineshchekovらは前述の *white mutant* の細胞が強い光を浴びたとき野生株と逆方向に泳ぐことを見出し、透明な細胞が凸レンズとして振る舞う可能性を指摘している(Sineshchekov et al., 1994)。しかし、野生株の細胞のレンズ効果は、水との屈折率の違いが大きくないこと、葉緑体が存在することなどにより否定的に考えられていた(Foster and Smyth, 1980)。

我々は野生株細胞のレンズ効果の有無を結像実験によって確かめた。細胞が凸レンズなら虫めがねのように結像するはずである。まず正立顕微鏡の視野絞り部分に、OHPシートに印刷した「P」の字を置いた(図7)。Pの字はphotoの頭文字であると同時に、上下左右に非対称な文字として光学的分野でレンズ効果を確認するのに使わ

れている(Serra et al., 2015)。結ばれるはずの像が小さくなるのを防ぐために明視野観察用のコンデンサを外し、まずスライドガラスに野生株細胞を貼り付けて観察した。そして焦点面を上方向に動かすと、果たして各細胞の上に P の字が現れた (図 7)。つまり、葉緑体をもつ野生株細胞も凸レンズとして機能したことがはっきりと分かった。

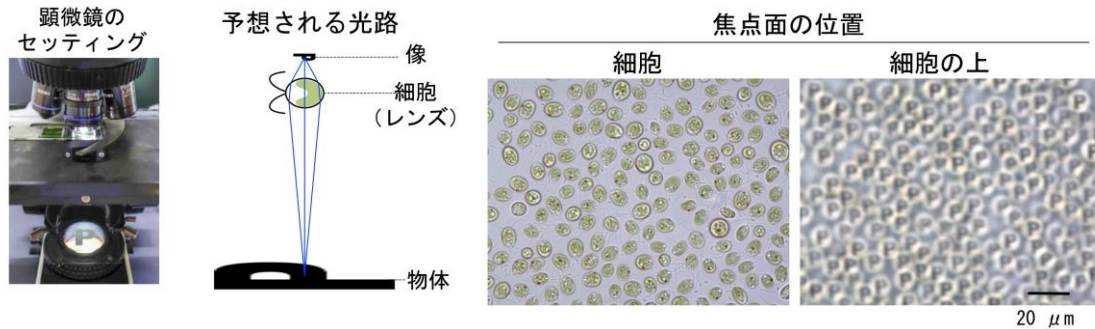


図 7 (左) レンズ効果検証のための顕微鏡のセッティングと、予想される光路。(右) 焦点面を細胞から上にずらすと、細胞の上に P の字が現れた。(Ueki et al., 2016)より引用して改変。)

冒頭で述べたように、カロテノイド色素層は、眼点が高指向性光受容を実現するための重要な部品であることは以前から分かっていた。しかし、この研究を通じて、それが無くなったときの効果ははっきりと確かめられた。色素層を失ったクラミドモナスは、走光性を示せなくなるどころか、光源方向を逆だと誤認してしまうのである。クラミドモナスの進化の過程で、単純に光受容タンパク質があるだけの光受容装置では細胞レンズ効果により光源方向を誤認してしまうことから、それを裏打ちする色素層が形成されたと考えられる。

ただ、もしそうであれば、色素層を省いて「本当の光源は常に逆方向にある」という認識の仕方でも光受容装置を発展させる進化の道筋もあり得たかもしれない。しかし、我々の実験では酸化還元薬剤によって走光性符号を強調する方法を採ったが、薬剤なしの眼点色素欠損細胞は、顕微鏡下で走光性を観察すると正と負を頻繁に入れ替え、どちらに行くか「迷って」いるように見える。色素層ありの状態では自転遊泳を行い、「明るい～暗い」の変動の中で光源を探すのではなく、色素層なしの状態では「明るい～もっと明るい」の変動の中で光源を探すのは非効率的なようである。色素層を備えた光受容装置はやはり正しい光源認識のために不可欠なのだろう。

4. おわりに

我々は鞭毛制御機構の解明への手段としてクラミドモナス走光性符号異常株の単離

を開始した。しかし、得られた *lts1-211* 株の解析は結果的に「細胞レンズ効果による集光をも跳ね返すための光反射板」という眼点カロテノイド色素の意義の再発見を導いた。このような意外な方向への研究の進展は、基礎研究、とりわけ順遺伝学的な研究手法の醍醐味と言えるかもしれない。近年、ゲノム編集による逆遺伝学的手法が生命科学の趨勢を占めているように見える。しかし、今回の発見は、順遺伝学的手法によるフィトエン合成酵素の活性低下株の単離なくして成し得なかった。「細胞運動屋」である我々のこの研究が、カロテノイド研究に少しでも寄与できたとしたら幸いである。

謝辞

本研究は科学研究費補助金 25113507, 25117506, 25291058, 26650093, 16K14752, 基礎生物学研究所統合ゲノミクス共同利用研究(14-733), および住友財団基礎科学研究助成(170862)の援助を受けて行った。また、本研究は廣野雅文教授 (法政大学), 久堀徹教授, 田中寛教授, 小林勇氣博士 (以上東京工業大学), 皆川純教授, 重信秀治博士, 得津隆太郎博士, 山口勝司博士 (以上基礎生物学研究所), 大西紀和博士 (岡山大学), 持地翔太氏 (元東京大学), 神谷律教授 (東京大学, 学習院大学) の協力を得て行った。

引用文献

- Berthold, P., Tsunoda, S.P., Ernst, O.P., Mages, W., Gradmann, D. & Hegemann, P. 2008. Channelrhodopsin-1 initiates phototaxis and photophobic responses in *Chlamydomonas* by immediate light-induced depolarization. *Plant Cell*. 20: 1665-1677.
- Bessen, M., Fay, R.B., Witman, G.B. 1980. Calcium control of waveform in isolated flagellar axonemes of *Chlamydomonas*. *J. Cell Biol.* 86: 446-455.
- Boonyareth, M., Saranak, J., Pinthong, D., Sanvarinda, Y. & Foster, K.W. 2009. Roles of cyclic AMP in regulation of phototaxis in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biologia*. 64: 1058-1065.
- Boyd, J.S., Mittelmeier, T.M., Lamb, M.R. & C.L. Dieckmann. 2011. Thioredoxin-family protein EYE2 and Ser/Thr kinase EYE3 play interdependent roles in eyespot assembly. *Mol. Biol. Cell*. 22: 1421-1429.
- Deisseroth, K., Feng, G., Majewska, A.K., Miesenbock, G., Ting, A. & Schnitzer, M.J. 2006. Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits. *J. Neurosci*. 26: 10380-10386.
- Dieckmann, C.L. 2003. Eyespot placement and assembly in the green alga *Chlamydomonas*.

- Bioessays*. 25:410-416.
- Eichenberger, W., Boschetti, A. & Michel, H.P. 1986. Lipid and Pigment Composition of a Chlorophyll Beta-Deficient Mutant of *Chlamydomonas-Reinhardtii*. *Physiol Plantarum*. 66:589-594.
- Feinleib, M.E.H. & Curry, G.M. 1971. The relationship between stimulus intensity and oriented phototactic response (topotaxis) in *Chlamydomonas*. *Physiol. Plantarum*. 25: 346-352.
- Foster, K.W. & Smyth, R.D. 1980. Light Antennas in phototactic algae. *Microbiol. Rev.* 44: 572-630.
- Hegemann, P. & Berthold, P. 2009. Sensory photoreceptors and light control of flagellar activity. *In The Chlamydomonas Sourcebook Second Edition*. Vol. 3. Academic Press. 395-430.
- Hyams, J.S. & Borisy, G.G. 1978. Isolated flagellar apparatus of *Chlamydomonas*: characterization of forward swimming and alteration of waveform and reversal of motion by calcium ions in vitro. *J. Cell Sci.* 33: 235-253.
- Isogai, N., Kamiya, R. & Yoshimura, K. 2000. Dominance between the two flagella during phototactic turning in *Chlamydomonas*. *Zool. Sci.* 17: 1261-1266.
- Kamiya, R., & Witman, G.B. 1984. Submicromolar levels of calcium control the balance of beating between the two flagella in demembrated models of *Chlamydomonas*. *J. Cell Biol.* 98: 97-107.
- Kim, J.Y.H., Kwak, H.S., Sung, Y.J., Choi, H.I., Hong, M.E., Lim, H.S., Lee, J.-H., Lee, S.Y. & Sim., S.J. 2016. Microfluidic high-throughput selection of microalgal strains with superior photosynthetic productivity using competitive phototaxis. *Sci. Rep.* 6: 21155.
- Kondo, T., Johnson, C.H. & Hastings, J.W. 1991. Action spectrum for resetting the circadian phototaxis rhythm in the CW15 strain of *Chlamydomonas* 1. Cells in darkness. *Plant Physiol.* 95: 197-205.
- McCarthy, S.S., Kobayashi, M.C. & Niyogi, K.K. 2004. White mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* are defective in phytoene synthase. *Genetics*. 168: 1249-1257.
- Morel-Laurens, N. 1987. Calcium control of phototactic orientation in *Chlamydomonas reinhardtii*: sign and strength of response. *Photochem. Photobiol.* 45: 119-128.
- Morel-Laurens, N.M.L. & Feinleib, M.E.H. 1983. Photomovement in an "eyeless" mutant of *Chlamydomonas*. *Photochem. Photobiol.* 37: 189-194.
- Nagel, G., Ollig, D., Fuhrmann, M., Kateriya, S., Musti, A.M., Bamberg, E. & Hegemann, P. 2002. Channelrhodopsin-1: a light-gated proton channel in green algae. *Science*. 296:2395-2398.

- Nagel, G., Szellas, T., Huhn, W., Kateriya, S., Adeishvili, N., Berthold, P., Ollig, D., Hegemann, P. & Bamberg, E. 2003. Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 100: 13940-13945.
- Niyogi, K.K., Bjorkman, O. & Grossman, A.R. 1997. The roles of specific xanthophylls in photoprotection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 94: 14162-14167.
- Patel-King, R.S., Benashki, S.E., Harrison, A. & King, S.M. 1996. Two functional thioredoxins containing redox-sensitive vicinal dithiols from the *Chlamydomonas* outer dynein arm. *J. Biol. Chem.* 271: 6283-6291.
- Pazour, G., Agrin, N., Leszyk, J. & Witman, G.B. 2005. Proteomic analysis of a eukaryotic flagellum. *J. Cell Biol.* 170: 103-13.
- Roberts, D.G., Lamb, M.R. & Dieckmann, C.L. 2001. Characterization of the EYE2 gene required for eyespot assembly in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Genetics*. 158: 1037-1049.
- Schaller, K. & Uhl, R. 1997. A microspectrophotometric study of the shielding properties of eyespot and cell body in *Chlamydomonas*. *Biophys. J.* 73: 1573-1578.
- Serra, F., Gharbi, M.A., Luo, Y., Liu, I.B., Bade, N.D., Kamien, R.D., Yang, S. & Stebe, K.J. 2015. Curvature - Driven, One - Step Assembly of Reconfigurable Smectic Liquid Crystal “Compound Eye” Lenses. *Adv. Opt. Materials*. 3: 1287-1292.
- Sineshchekov, O.A., Govorunova, E.G., Der, A., Keszthelyi, L. & Nultsch, W. 1994. Photoinduced electric currents in carotenoid-deficient *Chlamydomonas* mutants reconstituted with retinal and its analogs. *Biophys. J.* 66: 2073-2084.
- Sineshchekov, O.A., Jung, K.-H., & Spudich, J.L. 2002. Two rhodopsins mediate phototaxis to low- and high-intensity light in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 99: 8689-8694.
- Suzuki, T., Yamasaki, K., Fujita, S., Oda, K., Iseki, M., Yoshida, K., Watanabe, M., Daiyasu, H., Toh, H., Asamizu, E., Tabata, S., Miura, K., Fukuzawa, H., Nakamura, S., & Takahashi, T. 2003. Archaeal-type rhodopsins in *Chlamydomonas*: model structure and intracellular localization. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 301: 711-717.
- Takahashi, T. & Watanabe, M. 1993. Photosynthesis modulates the sign of phototaxis of wild-type *Chlamydomonas reinhardtii*. Effects of red background illumination and 3-(3',4'-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea. *FEBS Lett.* 336: 516-520.
- Ueki, N., Ide, T., Mochiji, S., Kobayashi, Y., Tokutsu, R., Ohnishi, N., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., Tanaka, K., Minagawa, J., Hisabori, T., Hirono, M. & Wakabayashi, K. 2016. Eyespot-dependent determination of the phototactic sign in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc.*

Natl. Acad. Sci. USA. 113: 5299-5304.

吉村建二郎 2009. 細胞行動-感じてたじろぐ単細胞生物. 尾崎浩一, 吉村建二郎 (編). 動物の「動く」の秘密に迫る-運動系の比較生物学. pp. 109-129 共立出版. 東京.

Wakabayashi, K. & King, S.M. 2006. Modulation of *Chlamydomonas reinhardtii* flagellar motility by redox poise. *J. Cell Biol.* 173: 743-754.

Wakabayashi, K., Misawa, Y., Mochiji, S. & Kamiya, R. 2011. Reduction-oxidation poise regulates the sign of phototaxis in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108: 11280-11284.

Zhang, F., Wang, L.P., Boyden, E.S. & Deisseroth, K. 2006. Channelrhodopsin-2 and optical control of excitable cells. *Nature methods.* 3: 785-792.