

光合成研究

第19巻 第3号 (通巻56号) 2009年12月

NEWS LETTER Vol. 19 NO. 3 December 2009
THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

次期会長選挙のお知らせ	101
トピックス テトラピロール研究の最新動向 ICTPPO2009参加報告 土屋 徹 (京大)	102
トピックス 光合成原核生物を用いた光合成研究の最新動向 ISPP2009参加報告 成川 礼 (東大)	106
トピックス 珪藻 <i>Chaetoceros gracilis</i> の酸素発生光化学系II複合体の単離と解析 長尾 遼、鞆 達也、池内 昌彦、榎並 勲 (東理大・東大)	109
研究紹介 ^{13}C を用いた光合成産物のイメージング 鈴井 伸郎 (日本原子力研究開発機構)	114
解説特集「光合成研究 —化学からのアプローチ—」 解説 人工分子で光合成系を組み立てる：キノンプールとその周辺 永田 央 (自然科学研究機構 分子研)	119
解説 光合成アンテナにおける(バクテリオ)クロロフィルのエステル鎖の構造と機能 溝口 正, 民秋 均 (立命館大)	128
解説 植物の光合成に学ぶ色素増感太陽電池の研究開発 瀬川 浩司 (東大)	136
解説 クロロフィルの分子化石ポルフィリンの地球科学 大河内 直彦, 柏山 祐一郎 (海洋研究開発機構)	142
報告記事 若手の会第一回セミナー 『みんなで光合成研究』開催と『若手の会』立ち上げの報告 成川 礼 (東大)	155
報告記事 光合成若手の会第一回セミナー『みんなで光合成研究』に参加して 川上 恵典 (岡山大)	156
集会案内	157
新刊図書	158
事務局からのお知らせ	158
日本光合成学会会員入会申込書	159
日本光合成学会会則	160
幹事会名簿	162
賛助法人会員広告	

日本光合成学会 次期会長選挙のお知らせ

「日本光合成学会会則（平成21年6月1日施行）第5条」に基づき、次期会長選挙（任期：平成23年1月1日～平成24年12月31日の2年間）を行います。本会では任期一年前に新会長を選出し、会の円滑、継続的な運営をはかることになっております。

この会報の末尾に添付されている投票用紙に会員の中から会長候補者1名の氏名を明記し、同封した返信用封筒に入れて選挙管理委員会宛に1月31日までにご返送ください（消印有効）。会員名簿は本誌第55号（2009年8月）巻末をごらんください。

これまでの本会会長は、宮地重遠、西村光雄、佐藤公行、金井龍二、井上頼直、高宮建一郎（故人）、村田紀夫、伊藤繁、池内昌彦（現会長：任期 平成21年1月1日～平成22年12月31日）の諸氏です。「会則5条の1では会長は二期を超えて再任されないこと」となっておりますので、今回の選挙では現会長にも被選挙権があります。

日本光合成学会 選挙管理委員会

佐藤 直樹（東京大学大学院総合文化研究科） TEL: 03-5454-6631

水澤 直樹（東京大学大学院総合文化研究科） TEL: 03-5454-6628

投票用紙の送付先

〒153-8902

東京都目黒区駒場3-8-1

東京大学大学院総合文化研究科

広域科学専攻 佐藤直樹研究室内

日本光合成学会選挙管理委員会 行き

テトラピロール研究の最新動向 ICTPPO2009参加報告

京都大学大学院人間・環境学研究科
土屋 徹

1. はじめに

平成21年7月26日から7月31日にかけて、アメリカのカリフォルニア州にあるアシロマで International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors of Photosynthetic Organisms (ICTPPO) 2009 が開催されました。会場であるアシロマ会議場は、サンフランシスコからリムジンバスに乗って3時間ほど南に下ったモントレイの海岸沿いに位置しています。アシロマといえば、1975年に開催されたアシロマ会議があまりにも有名ですので、筆者は今回彼の地を訪れることを楽しみにしていました。蒸し暑い日本から行ったせいか、現地の気候は大変心地よく感じられました。最高気温は20℃ほどで日中は半袖でも十分くらいでしたが、朝と夜には上着が必要なほど冷え込みました。参加者は敷地内に点在するロッジに宿泊しましたが、基本的にインターネットに繋がらない環境でしたので、無線LANに接続できる受付の建物には常に人々が集まっており、難しい顔をしてノートパソコンに向かっている光景が見られました。

話は本題に戻りますが、本国際会議はその名のとおりテトラピロール研究に焦点を絞ったもので、一年おきにクロロフィルとヘムおよびビリリンに関する研究



アシロマ会議場の入口

者が集い、代謝から立体構造解析まで幅広い分野の発表が行われます。筆者は、前回京都で開催された際には、運営のお手伝いをしながら参加していましたが、今回は最近開発したアカリオクロリスでの遺伝子導入法を基にした研究成果を発表するために参加しました。参加者リストをながめると、地元アメリカからの参加者が一番多かったのですが、全参加者79人の中で日本人は15人であり、日本からの積極的な参加がうかがえます。会議は Robert Blankenship 博士の講演に始まり、 Thomas Moore 博士の講演で幕を閉じました。筆者は本稿で、会議全体での発表・講演から見えてきた、最近のテトラピロール研究の動向について簡潔にまとめたいと思います。なお、項目によって筆者の理解度に差がありますので、予めご了承下さい。

2. クロロフィル関連

テトラピロール研究の中でもクロロフィルは重要な研究対象の1つであり、多くの発表がありました。まず、日本人ではテトラピロールの分解とその制御についてのセッションで田中歩先生(北大)が講演されました。田中先生の講演を聴く機会は比較的多いのですが、毎回新しい話題が追加されています。今回の講演での3つのトピックのうち、櫻庭康仁さん(北大)がポスターで発表したクロロフィルドaオキシゲナーゼ(CAO)を過剰発現させたシロイヌナズナが“stay green”の表現型を示すという話題が初めて聴く内容でした。結果の解釈は非常に難しいのですが、高等植物ではクロロフィルbがクロロフィルaを介さずに直接分解されることはないので、クロロフィル分解の制御機構を解明する端緒となるかも知れないと思いました。また、民秋研究室の岡本千寛さん(立命館大)が、クロロフィル分解産物についての発表を行っていました。ただでさえ研究者人口の少ない分野で、今回バナ

* 連絡先 E-mail: ttsuchi@bio.mbox.media.kyoto-u.ac.jp



敷地内の様子

ナの皮のクロロフィル分解産物について発表した Bernhard Kräutler 博士のグループなど海外での研究が盛んなように感じていましたが、日本でも研究が進んでいることを心強く思いました。Bernhard Grimm 博士はシロイヌナズナで、グルタミル tRNA 還元酵素 (GluTR) と結合するタンパク質 (GluTRBP) を同定・解析した結果を発表していました。GluTRBP の過剰発現株はプロトポルフィリンIXの蓄積を増加させ、逆にMg-プロトポルフィリンIXモノメチルエステルの蓄積を減少させるとのことです。クロロフィル代謝に関わる酵素のほぼ全てが判明した現在では、このように、酵素と相互作用して代謝の制御に関与するであろうタンパク質が、今後の標的となるのではないかと考えられます。一方、分子遺伝学的な解析も有効な手法の1つと思われまます。クラミドモナスでは、半世紀ほど前から暗黒下で黄色くなる γ 変異体の存在が知られていましたが、いくつかの γ 変異体ではプロトクロロフィリド還元酵素のLサブユニットの蓄積に影響があることがこれまでに判明しています。Krishna Niyogi 博士は新たな γ 変異体を単離し、その解析結果について発表していました。このような解析もクロロフィル代謝の制御機構の解明に繋がってゆくのではないかと思います。その他の発表で筆者が感じたのは、クロロフィル生合成の中間体に結合するタンパク質について注目が高まっているということです。Mg-プロトポルフィリンIXなどに結合するGUN4についての発表もいくつかありましたが、クロロフィル分解に関与するとされるRCC還元酵素がミトコンドリア内でプロトポルフィリンIXと結合することで一重項酸素の発生を抑制して植物を細胞死から防御する役割があるのではないかと発表もありました。増田建先生 (東

大) が進めているヘム結合タンパク質も含めて、ポルフィリン結合タンパク質の解析が、今後の重要なテーマの1つとなりつつあるように思います。

3. 光受容体

Clark Lagarias博士が主催者ということもあり、今回はフィトクロムなどの光受容体を含めてピリン関連の発表が例年よりも多くありました。フィトクロムについては、日本人では稲垣言要博士 (農業生物資源研) が、イネの*phyB*変異体の解析をクロロフィル代謝と関連付けて発表されていました。光受容体とクロロフィル代謝という、本会議の2つの大きなテーマの交点となるものです。また、近年発見されたシアノバクテリアのフィトクロム様光受容体であるシアノバクテリオクロムについては、色素を結合するGAFドメインをピリン合成遺伝子と共発現させて得た産物の解析が多く見受けられました。池内昌彦先生 (東大) の研究室からは、成川礼先生 (東大) が *Anabaena* sp. PCC 7120 の AnPixJ の立体構造の解析を、石塚量見さん (東大) は *Thermosynechococcus elongatus* の TePixJ の機能解析を、広瀬侑さん (東大) は *Nostoc punctiforme* での *ccaS* 遺伝子の機能解析を発表していました。また、徳富哲先生 (大阪府大) は *Synechocystis* の PixJ1 の低温分光解析の結果を発表されていました。シアノバクテリオクロムについては、Clark Lagarias 博士のグループもいくつか発表しており、蛍光タンパク質としての応用面も含めて、現在ホットな研究対象であることがわかります。

4. ピリン関連

最近、研究が進展しているピリンのリアーゼについては、今回の参加者では Donald Bryant 博士のグループが *Synechococcus* sp. PCC 7002 のリアーゼについて全て同定したと発表していました。しかし、個人的には導入する遺伝子の組み合わせにより、フィコシアニンのアポタンパク質である CpcA に 6 種類のピリンを結合させたフィコピリンタンパク質を大腸菌で合成させた研究にも興味を抱きました。天然に存在するピリンの他にも、フィトクロモピリン合成酵素と PecEF との組み合わせにより新奇なピリンが合成され CpcA に取り込まれることも示していましたが、とにかくそれぞれのフィコピリンタンパク質の色が鮮やかで、並べた写真を見ているだけでも楽しく飽きませんでし

た。また、ビリンの合成酵素としてフェレドキシン依存性ビリン還元酵素のファミリーが存在していますが、それらの立体構造の解析についても発表がありました。2006年に初めてビリン還元酵素の立体構造の報告を行った、福山恵一先生（阪大）の研究室の萩原義徳さん（阪大）がそのフィコシアノビリン合成酵素について発表し、杉島正一先生（久留米大）がフェレドキシン依存性ビリン還元酵素と有意な相同性を示す、RCC還元酵素についての成果を発表されました。フィコシアノビリン合成酵素については他にもいくつかの発表があり、精力的に解析が進んでいるように感じました。

5. プラスチドシグナル

1990年代に入って、プラスチドから核への情報伝達について解析が進み、多くの興味を持たれてきました。その結果、レトログレードシグナルの一つとして、クロロフィル合成の中間体であるMg-プロトポルフィリンIXがシグナル分子ではないかと考えられてきました。*gun*変異体を単離し解析を行っている Joanne Chory 博士の講演では、これまでの*gun*変異体に加えて、アクチベーションタギングによって得た変異体の解析結果についても発表していました。その結果をポルフィリン代謝に注目してまとめると、Mg-キ

ラターゼのHサブユニットおよびDサブユニット、ヘムオキシゲナーゼ、フィトクロモビリン合成酵素、ポルフィリン結合タンパク質であるGUN4の変異とFe-キラターゼ1の過剰発現が*gun*の表現型を示すということで、これらはプロトヘムの蓄積量の変動にも影響を与える可能性のある変異のようにも解釈できます。昨年、望月伸悦先生（京大）や Alison Smith 博士が、定常状態でのMg-プロトポルフィリンIXのレベルが、*Lhcb*の発現に見られるプラスチド-核シグナルとは関連がないことを示したことを考慮すると、シグナル分子の実体を解明するためには、これまで見過ごされていたプロトヘムについても精査する必要があるように考えられました。また、参加者の中にも遊離のプロトヘムの量を気にしている人達がいるように感じました。今回は高橋重一さん（東大）が発表していましたが、近年プロトヘムの高感度定量系を開発し続けている増田先生の成果が今後の解析において重要な手法となるのではないかと思います。

6. 蛍光タンパク質

昨年、GFPの研究でノーベル化学賞を受賞した Roger Tsien 博士が参加していたことからわかりますが、色素タンパク質を蛍光タンパク質として応用することを目的とした研究の発表も多く見られたのが特徴



集合写真

的でした。植物のフィトクロムの応用を試みる研究は以前からありましたが、近年発見された *Deinococcus radiodurans* 由来のバクテリオフィトクロムは発色団としてピリベルジンを利用するため、より広い生物種での応用が可能で、さらに改変により蛍光極大波長を長波長側にシフトさせることで、新奇な性質の蛍光タンパク質として期待されているようです。また、上述したシアノバクテリオクロムについても、応用面での研究が進んでいるようです。Roger Tsien 博士の講演では興味深い GFP の誘導体が紹介されていました。sosGFP と名付けられた一重項酸素特異的に応答する誘導体で、タンパク質間の相互作用の解析に利用することを考えているようです。標的タンパク質にバクテリオフィトクロム由来のプロトポルフィリン IX 結合領域を融合させ、光の照射により一重項酸素を発生させると、寿命の間に拡散する範囲内 (~100 nm) に sosGFP を融合させたタンパク質が存在していれば検出できるというもので、FRET での有効な範囲 (6-8 nm) よりも広く色素の配向にも依存しないことが特徴のようです。光合成生物でもこのような手法が利用可能なのかについてはわかりませんが、逆に sosGFP 自体を光合

成研究に応用することが出来ないものかと思いました。

7. おわりに

筆者のわかる範囲で最近の動向をまとめてみましたが、テトラピロール研究といっても、上記のとおり研究対象から手法までかなり多岐に渡っています。今回 ICTPPO2009 に参加して、日本人研究者が切り開いてきたオリジナルな研究も多いということを改めて感じました。競争の激しい分野もありますが、さまざまな生理現象との関連や応用面での利用も含めて、テトラピロール研究はこれからも重要な研究領域であり続けるだろうと確信しました。今回は、Alfred Holzwarth 博士と Nicol Frankenberg-Dinkel 博士が主催してドイツで開催されるということです。

Received November 10, 2009, Accepted November 11, 2009, Published December 31, 2009

Trends in Tetrapyrrole Research: Report on ICTPPO2009

Tohru Tsuchiya*

Graduate School of Human and Environmental Studies, Kyoto University

光合成原核生物を用いた光合成研究の最新動向 ISPP2009参加報告

東京大学・大学院総合文化研究科

成川 礼*

1. はじめに

2009年8月9日から8月14日まで、カナダのモントリオールにて、13th International Symposium on Phototrophic Prokaryotes (ISPP) が開催された。この国際会議は原核光合成生物の研究者が一同に会し、あらゆる分野についての発表、討論を行う場として、三年に一回行われる。2つのキーノート、21のプレナリーレクチャー、84の口頭発表、138のポスター発表より構成され、計250近くの発表があった。前回、前々回と比べると発表数が若干減少していた。全ての研究発表について紹介することはできないので、技術、生物材料、進化、生態、応用などの観点で、私の印象に残ったトピックを紹介したい。

技術面では、次世代シーケンサーの活用が目立った。新規ゲノム配列の決定だけでなく、メタゲノム、トランスクリプトーム、メタトランスクリプトームなどにも活用されていた。それに伴うように、環境中でのメタ解析や異種間コミュニケーションなどの解析も目を引いた。ゲノム/ポストゲノム時代から、また一段研究のフェーズが移り変わり、ゲノム生態学と代表種の詳細解析との両輪で大きな研究の流れが形成されるのではないかと感じた。

2. 光合成細菌

光合成細菌を用いた研究では、D. Bryantらが近年見つけた新規の光合成細菌 *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum* の解析に興味を持った。この生物は、アシドバクテリア門で初めて見つかった光合成細菌であり、5番目の光合成細菌の発見となる。光捕集系であるFMOやクロロゾームの解析では、それぞれ緑色硫黄細菌と似ているものの、特有の分光特性や色素組成であることが報告された。また、ゲノム/メタゲノム/メタトランスクリプトーム

解析も行っていた。全く新規の生物の解析は、これまでの前提を覆す可能性や新たな研究分野の創出につながる可能性があり、先行きが期待される。また、K. Reddingらによる*Heliobacteria*の蛍光収率の変化の解析も興味深かった。酸素発生型光合成で見られるコーツキー効果とは異なった特性を持ち、このような現象はcyclicな電子伝達の存在を期待させ、今後の研究展開が待たれる。生理学的解析としては、C. Bauerらによる*Rhodobacter*におけるテトラピロール合成系の制御機構の解析、特に光・レドックスセンサーの解析が興味深かった。AppAの青色光感知機構に関する解析、PpsRがヘミンセンサーとして機能する可能性、RegBがキノンの結合とシステインを介して、それぞれ独立にレドックスを感知するなど、非常に刺激的な発表であった。

3. シアノバクテリア

シアノバクテリアを用いた研究では、W. Hessらが精力的に行っている、non-coding RNAやantisense RNAの解析が目を引いた。タイリングアレイや次世代シーケンサーを用いて、網羅的に新規のRNAを見だし、実験的に検証していた。強光に応答するnon-coding RNAやファージ感染に応答するnon-coding RNAなどを同定していた。今回の発表は*Synechocystis*や*Prochlorococcus*を用いた研究だったが、今後多様なシアノバクテリアでRNA遺伝子の研究が進むと、普遍性と多様性に関して知見が深まると感じた。ゲノム/ポストゲノム解析としては、A. Grossmanらによる好熱性*Synechococcus*の解析とL. Shermanらによる*Cyanothece*の解析が興味深かった。A. Grossmanらは、Yellowstoneの温泉から単離された二種の窒素固定シアノバクテリア*Synechococcus*のゲノムを解読した。二つの種は非常に近縁ながら、大きな遺伝子領域において遺伝子配置

* 連絡先 E-mail: narikawa@bio.c.u-tokyo.ac.jp

が保存されておらず、ゲノム進化を考える上で興味深い。また、温泉マッド中での遺伝子発現を解析し、窒素固定遺伝子が夜に発現するなど、メタな環境中での転写動態を調べていた。L. Shermanらは6種の窒素固定を行う*Cyanothece*のゲノム解析とそれらの比較ゲノムを行っていた。非常に近縁でありながら、フィコビリソームのアンテナタンパク質フィコエリスリンの有無に違いがあった。また、細胞分裂、窒素固定、光合成、グリコーゲン代謝などに関して、転写、タンパク質、代謝レベルでの概日リズムを測定しており、システム生物学としての基盤データが蓄積されつつあると感じた。

私自身は、シアノバクテリアの光受容や光捕集に関心があるため、D. Kirilovsky らによる非光化学的消光に関わるカロテノイド結合光受容体OCPと関連タンパク質FRPの解析や R. Alvey や W. Schluchter らによるフィコビリソームタンパク質の生化学的解析は非常に興味深かった。後者の解析では、大腸菌内で色素合成系、リアーゼ、異性化酵素と色素結合タンパク質とを共発現することで、様々な種類のカラフルな色素タンパク質を大腸菌の中で合成していた。これにより、新規リアーゼの機能や、酵素や色素の特異性に関する知見が蓄積された。今回は一つの色素タンパク質を作製する系だったが、今後さらに系を組み合わせることで、フィコビリソームアセンブリーの詳細な機構解明、最終的には、大腸菌内でのフィコビリソーム合成も可能になるのでは、と期待させる内容だった。

それぞれの生物群の解析を見渡すと、傾向としてシアノバクテリアでは光合成の研究が相対的に少なく、逆に光合成細菌では光合成以外の生理学的な解析が少ないように感じた。光合成生物において、光合成とそれ以外の現象は密接に関連しているので、両者の解析がバランスよくなされると良いのでは、と感じた。また、シアノバクテリアの解析としては、*Anabaena*, *Nostoc*を用いた研究が目立った。やはり、ヘテロシスト、ホルモゴニア、アキネートなどへの細胞分化の分子機構に注目が集まるのだろう。*Anabaena*では、E. Flores らによる糸状体形成に関わる遺伝子の解析や C.W. Mullineaux らによる細胞間物質輸送の解析、*Nostoc*では J. Meeks らによるホルモゴニアのマイクロアレイ解析などが個人的には面白かった。一方、光合成細菌では、緑色硫黄細菌を用いた硫黄代謝に関わる解析が目立った。変異株の解析か

ら、プロテオーム、比較ゲノム解析まで見受けられた。

4. 進化・生態

進化という観点では、A.Y. Mulkidjanian らによる光合成進化に関する大胆な仮説が面白かった。比較ゲノム解析から、現存する光合成細菌は、始源的シアノバクテリアから遺伝子水平伝播により光合成装置を獲得したとする仮説や、始源的な光合成は、硫化亜鉛により二酸化炭素をギ酸に光還元する反応だったとする仮説など、正しいかどうかはさておき、今後の研究を活性化させる刺激的な仮説だった。

生態という観点では、F. Partensky らによる、海洋性シアノバクテリア*Synechococcus*と*Prochlorococcus*のゲノム生態学的解析が興味深かった。海洋性シアノバクテリアは海の深度に対して光強度や栄養の勾配により、棲み分けを行い、そのニッチは気候によって変動している。ニッチ毎の生物群で分類し、比較ゲノム解析を行うことで、それぞれのニッチ特異的な遺伝子群を同定していた。その結果、ある生物群において特定のDNA損傷修復系遺伝子の欠失が、ゲノム進化を加速化しているとする仮説を提示していた。多様な種のゲノム情報が蓄積している現状では、生態学的特徴や生理学的特徴に着目した比較ゲノム解析とその検証実験が、今後の研究の流れの一つになるのではないかと感じた。

5. 応用的側面

応用面では、ヒドロゲナーゼやニトロゲナーゼを用いた水素生産がさらに大きな盛り上がりを見せていた。元々水素生産効率の高い生物種を選別し、さらに遺伝子改変により生産性を高めるという戦略が有効だろう。実用まではまだまだ遠いが、このようなプロジェクトにより、基礎研究の積み上げも活性化されるといいと思う。

6. おわりに

私自身は最終日の口頭セッションで、新規光受容体シアノバクテリオクロムAnPixJの分光特性と立体構造に関する発表を行った。シアノバクテリオクロムとしては初めて光受容ドメインの構造決定に成功した。光受容機構解明のための基盤情報となることを期待している。私は生理学的な解析はしておらず、タンパク

質の機能解析を主としている。私の発表の前日にJ. Meeks らが、遺伝子破壊株の解析からAnPixJホモログが*Nostoc*において走光性に関わるという報告を行った。AnPixJはそのドメイン構成から、走光性に関わりと以前から予測していたので、生理学的解析と整合性が合い、私自身の研究においても得るものが多い学会となった。

会議は比較的早い時間に終わるため、連夜美味しいビールやワインを楽しんだ。懇親会は、バスで一時間程移動したメープル農場で行われ、途中からビールが有料なのには面食らったが、飲みや踊れやの楽しい宴会となった。最終日にはおおぶりのロブスターを食し、メープルシロップ関連のお土産を大量に購入し、カナダを後にした。

次回2012年のISPPはポルトガルで開催される。光合成原核生物の研究のさらなる展開を期待しつつ、次回も参加・発表できるよう、研究に邁進したい。

謝辞

光合成細菌のトピックにつきましては、大阪大学の浅井智広さんに助言、協力をいただきました。この場を借りて、感謝申し上げます。

*Received November 9, 2009, Accepted November 10, 2009,
Published December 31, 2009*

Latest Trends in the Photosynthesis Studies Using Phototrophic Prokaryotes

Participating Report on ISPP2009

Rei Narikawa*

Department of Life Sciences (Biology),
Graduate School of Arts and Science, University of Tokyo

珪藻 *Chaetoceros gracilis* の酸素発生光化学系II複合体の単離と解析[§]

¹東京大学大学院 総合文化研究科, ²東京理科大学 理学部
長尾 遼^{1,*}、輦 達也²、池内 昌彦¹、榎並 勲²

1. はじめに

光合成生物における光エネルギー変換系は葉緑体のチラコイド膜上に存在する。光照射に伴い水を分解し酸素を発生する光化学系II複合体 (PSII) は、CP47, CP43, D2, D1, Cytochrome *b559α*などの膜タンパク質と数種の表在性タンパク質に加え、種々の光合成色素や酸化還元成分が結合した超分子複合体である。PSIIは、水を電子供与体としてプラストキノン (PQ) を還元するとともに、副産物として酸素を発生する点で、現在の地球上の生態系を保持するために最も重要な反応系の一つだといえる。しかし、その機構を明らかにする点でPSIIは不安定で、失活しやすく、また光合成生物により精製過程も異なるため、単離・精製は決して容易なことではない。これまでに全表在性タンパク質を結合した高い酸素発生活性をもつPSIIの調製に成功しているのは、高等植物^{1,2)}、シアノバクテリア^{3,4)}、紅藻^{5,6)}、緑藻⁷⁾、ユーグレナ⁸⁾からである。種々のPSIIを解析する過程で、表在性タンパク質の種類が光合成生物ごとに異なっていることが明らかとなり、高等植物・緑藻・ユーグレナでは P_{sb}O, P_{sb}P, P_{sb}Q の3種類、シアノバクテリアでは P_{sb}O, P_{sb}V, P_{sb}U の3種類、紅藻では P_{sb}O, P_{sb}Q', P_{sb}V, P_{sb}U の4種類の存在がそれぞれで確認されてきた¹⁻⁸⁾。さらに、その結合様式も光合成生物ごとに異なっていることが知られている^{9,10)}。このため、個々の表在性タンパク質の機能と構造および結合様式を明らかにすることは、酸素発生系における表在性タンパク質の役割と進化を解析する上で重要な課題である。

珪藻は、海洋、湖沼、河川などの水域に普遍的に生育し、水域圏生物の重要な食糧源となると共に、世界中の熱帯雨林が吸収する総量と同程度の CO₂ を吸収することから地球温暖化の防止にも大いに貢献して

いる藻類である^{11,12)}。従って、珪藻は水域圏の生態系で最も重要な植物プランクトンの一種であるといえる。なお、珪藻は紅藻の二次共生により誕生した藻類¹³⁾であり、珪藻PSIIにどのような表在性タンパク質が結合し、機能しているかを明らかにすることは、植物の進化の過程を明らかにする上でも極めて興味深い。これまでに、珪藻からチラコイド膜やPSIIを精製する試みが行われてきたが¹⁴⁾、高い酸素発生活性を保持した状態での精製には成功していない。その大きな原因の1つは、珪藻は珪酸質の固い殻をもつため細胞破壊が困難であると考えられてきたことにある。近年、筆者らは、海水産の中心目珪藻 *Chaetoceros gracilis* から高い酸素発生活性があり、全表在性タンパク質を結合したPSIIの単離に成功した¹⁵⁾。本稿では、珪藻 *C. gracilis* からのPSII単離法といくつかの解析結果を報告する。

2. 珪藻PSIIの単離

図1に珪藻 *C. gracilis* からのPSII単離法を示した。8Lの人工海水を用いて10日間培養した *C. gracilis* 細胞を buffer A (1 M betaine / 50 mM Mes (pH 6.5) / 5 mM MgCl₂) に懸濁し、DNA分解酵素である DNase I とプロテアーゼインヒビターである PMSF を終濃度 1 mM になるようにそれぞれ加え、遠心チューブの中で混合した。そのチューブを液体窒素に入れ凍結した後、手早く融解させ、30 min、氷上、暗所で処理することにより細胞を温和に破壊した¹⁶⁾。その後、遠心を行い未破碎細胞を除いた後、40,000 x g, 10 min で遠心した。この沈殿を buffer B (1 M betaine / 50 mM Mes (pH 6.5) / 1 mM EDTA) に懸濁し、チラコイド膜とした。

調製したチラコイド膜を終濃度 1.0 mg Chl/ml、1.0% Triton X-100で、5 min、氷上、暗所でスターラー攪拌

[§] 第9回日本光合成研究会シンポジウム ポスター賞受賞論文

* 連絡先 E-mail: nagao@bio.c.u-tokyo.ac.jp

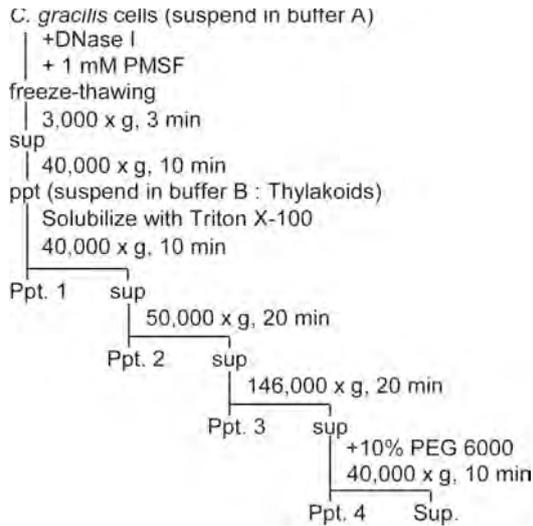


図1 珪藻 *C. gracilis* からのPSII単離法

しながら可溶化処理した。その後、40,000 × g で遠心し、未可溶のチラコイド膜を沈殿 (Ppt. 1) として除いた上清を、50,000 × g、146,000 × g で遠心し、得られた沈殿をそれぞれ Ppt. 2、Ppt. 3 とした。146,000 × g 後の遠心上清に、終濃度10% になるように PEG 6000 を加え、40,000 × g で遠心し、その沈殿を Ppt. 4 とし、遠心上清を Sup. とした。これら5つのフラクション (図1の Ppt. 1-4, Sup.) とチラコイド膜で、クロロフィル含量¹⁷⁾と酸素発生活性の測定、SDS-PAGEによるポリペプチド組成の分析を行った。

3. 各フラクションのポリペプチド組成、酸素発生活性と回収率

表1にTriton処理後の各フラクションのクロロフィルと酸素発生活性の分布を示し、さらに、図2にチラ

コイド膜とPSII精製過程における各フラクションのポリペプチド組成を示した。

Triton処理後の 40,000 × g の遠心で沈殿してくる未可溶チラコイド膜 (Ppt. 1) には、約14%のクロロフィルが分布した。従って、約86%のクロロフィルタンパク質複合体が、Triton処理により可溶化したことになる。可溶化したサンプルを 50,000 × g で遠心沈殿してくるフラクション (Ppt. 2) は、図2の lane 3 のようなポリペプチド組成となり、さらにWestern blottingの結果から、*印で示すPSIの大型サブユニット (PsaA/B) と●印で示す集光性色素タンパク質複合体fucoxanthin chlorophyll *a/c* binding proteins (FCP) のそれぞれが確認された。従って、このフラクションは主にPSIから構成されていると言える。このPSIには約12%のクロロフィルが分布し、酸素発生活性はほとんどなかった。さらに、146,000 × g の遠心で沈殿してくるフラクション (Ppt. 3) には、50,000 × g の遠心で沈殿しきらなかった PSI とわずかな PSII が存在し (図2の lane 4)、そのクロロフィル分布は約2%であった。この遠心操作を省略すると、PSII フラクションに PSI が混在することになる。また、50,000 × gの遠心を省略して、146,000 × g の遠心をする、その遠心沈殿に PSII が混在する結果となったので、この遠心分画過程は必要である。146,000 × g の遠心上清に終濃度 10% になるように PEG 6000 を加え、40,000 × g の遠心で沈殿してくるフラクション (Ppt. 4) は、約 850 μmol O₂ (mg chl)⁻¹ h⁻¹ の高い酸素発生活性を示し、主としてPSIIのポリペプチドから構成されるフラクションであった(後述)。このフラクションには、約18%のクロロフィルと約 62%の酸素発生活性がそれぞれ分布していた。一

表1 Triton処理後の各フラクションのクロロフィルと酸素発生活性の分布

	Total Chl		Chl <i>a/c</i> ratio	Oxygen evolution ^b	
	mg Chl	%		μmol O ₂ (mg chl) ⁻¹ h ⁻¹	%
Thylakoids	45.8 ± 5.0	100 ^a	2.6 ± 0.6	242 ± 11	100 ^c
Ppt. 1	6.6 ± 2.6	14	3.0 ± 0.6	191 ± 32	11
Ppt. 2	5.5 ± 0.7	12	7.4 ± 2.7	11 ± 5	0.5
Ppt. 3	0.7 ± 0.2	2	4.5 ± 1.9	130 ± 48	1
Ppt. 4	8.1 ± 0.5	18	2.5 ± 0.6	850 ± 98	62
Sup.	16.8 ± 2.0	39	2.0 ± 0.5	0	0

^a チラコイド膜を100%とした時のクロロフィル分布

^b 酸素発生活性の測定には、bufferに0.4 M sucrose / 40 mM Mes (pH 6.5)、アクセプターに*p*-benzoquinoneを用いた。

^c チラコイド膜を100%とした時の酸素発生活性分布

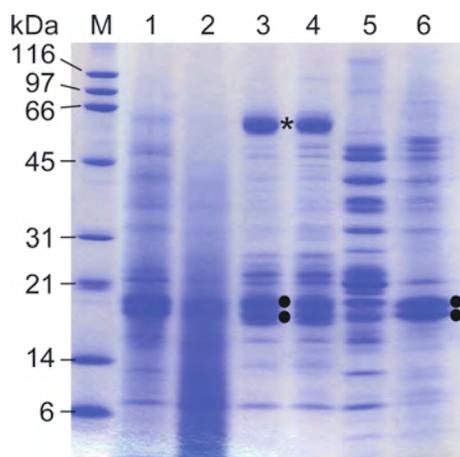


図2 各フラクションのポリペプチド組成

M : 分子量マーカー、lane 1 : チラコイド膜、lane 2 : Ppt. 1、lane 3 : Ppt. 2 (PSI)、lane 4 : Ppt. 3、lane 5 : Ppt. 4 (PSII)、lane 6 : Sup.

* : anti-PsaA/Bと反応したバンド、• : anti-FCPと反応したバンド

方、40,000 x g の遠心上清 (Sup.) には、表1に示すようにchl *a/c*比が2.0とchl *c*が多く、さらにWestern blottingの結果から、●印で示す FCP が確認されたため、このフラクションは主に FCP で構成されていることが示された (図2の lane 6)。

これらの結果は、チラコイド膜をTriton処理し遠心分画のみという単純かつ短時間の操作により、高い酸素発生活性をもつ PSII が高収率に得られたことを示している。

4. 珪藻PSIIのポリペプチド組成と表在性タンパク質

図3に Ppt. 4 のポリペプチドバンドを同定した結果を示す。図2 でみられる Ppt. 4 の各バンドを Western blottingやN末端アミノ酸シーケンスにより同定した結果、PSII膜タンパク質である CP47、CP43、D2、D1、Cytochrome *b559α* が確認されたので (図3の lane 1)、このフラクションは主に PSII で構成されていることが判明した。これらの膜タンパク質に加え、後述する PsbO、PsbQ', PsbV、PsbU、Psb31 の5種の表在性タンパク質と FCP、RuBisCO のサブユニットがこのフラクションに存在した。

このPSIIフラクションをアルカリTris処理し表在性タンパク質を遊離させた結果¹⁸⁾、5本のバンドが得られた (図3の lane 2)。Western blottingの結果、これらのうち4種は紅藻タイプの PsbO、PsbQ', PsbV、PsbU で

あったが、残りの一種は未知の新規タンパク質 (Psb31と命名) であることが判明した。この新規タンパク質 (Psb31) の遺伝子をクローニングした結果、Psb31 は核コードで、そのリーダー配列からチラコイド膜のルーメン側に存在することを明らかにした¹⁹⁾。さらに、Psb31 が PSII 膜タンパク質と直接静

電的結合していることが、架橋実験により明らかになった¹⁹⁾。このPsb31は、ゲノム解読されている珪藻 *Phaeodactylum tricornutum* と *Thalassiosira pseudonana*^{20, 21)}にもコードされていることから、珪藻には5種類の表在性タンパク質が結合していることが示唆された。

5. おわりに

これまで困難だと考えられてきた珪藻から高い酸素発生活性を保持した状態でのPSIIの単離に初めて成功した。我々のグループは、過去に、ゲノムが解読されている *P. tricornutum* と *T. pseudonana* から PSII の単離を試みた。凍結融解法による細胞破碎ができなかったため、ガラスビーズ処理やフレンチプレス処理を用いて細胞を破碎したところ、酸素発生活性を失ったチラコイド膜しか得られなかった。従って、酸素発生活性を保持した状態でのチラコイド膜さらにはPSIIを容易に単離できるという点で、*C. gracilis* は使い勝手の良い材料であると言える。

図3に示すように、*C. gracilis* から得られた PSII には、RuBisCO や FCP が結合していた。すでに、これら成分をイオン交換クロマトグラフィーで除き、約 2,100 μmol O₂ (mg chl)⁻¹ h⁻¹の高い活性をもつ PSII の精製に成功している (B. B. A. in press)²²⁾。さらにこのPSIIには、紅藻タイプの4種の表在性タンパク質に加え、5番目の新規の表在性タンパク質 (Psb31) が結合していた。これら表在性タンパク質の再構成実験を行い、機能と結合様式を明らかにしたいと考えている。

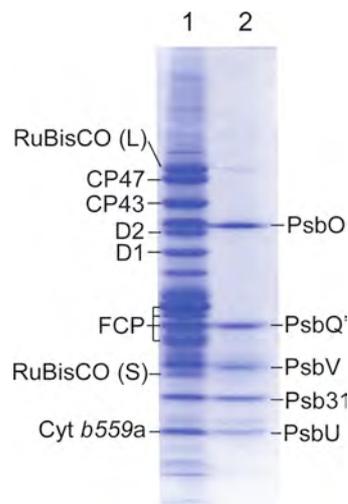


図3 PSIIサブユニットの同定

lane 1 : PSII、lane 2 : PSIIをアルカリTris処理して得た遠心上清

謝辞

本研究は、兵庫県立大学の菓子野 康浩先生、日本大学の奥村 彰規先生、理化学研究所の鈴木 健裕博士の指導・協力によるものであり、深く感謝し御礼申し上げます。また、本研究結果は日本学術振興会特別研究員の科学研究費補助金の援助によるものであり、謝意を表します。

Received November 7, 2009, Accepted November 20, 2009,

Published December 31, 2009

参考文献

- Berthold, D. A., Babcock, G. T., and Yocum, C. F. (1981) A highly resolved oxygen-evolving photosystem II preparation from spinach thylakoid membranes, *FEBS Lett.* 134, 231-234.
- Enami, I., Kamino, K., Shen, J. -R., Satoh, K., and Katoh, S. (1989) Isolation and characterization of Photosystem II complexes which lack light-harvesting chlorophyll *a/b* proteins but retain three extrinsic proteins related to oxygen evolution from spinach, *Biochim. Biophys. Acta* 977, 33-39.
- Shen, J. -R., and Inoue, Y. (1993) Binding and functional properties of two new extrinsic components, cytochrome *c*-550 and a 12-kDa protein, in cyanobacterial photosystem II, *Biochemistry* 32, 1825-1832.
- Kashino, Y., Lauber, W. M., Carroll, J. A., Wang, Q., Whitmarsh, J., Satoh, K., and Pakrasi, H. B. (2002) Proteomic analysis of a highly active photosystem II preparation from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 reveals the presence of novel polypeptides, *Biochemistry* 41, 8004-8012.
- Enami, I., Murayama, H., Ohta, H., Kamo, M., Nakazato, K., and Shen, J. -R. (1995) Isolation and characterization of a Photosystem II complex from the red alga *Cyanidium caldarium*: association of cytochrome *c*-550 and a 12 kDa protein with the complex, *Biochim. Biophys. Acta* 1232, 208-216.
- Adachi, H., Umena, Y., Enami, I., Henmi, T., Kamiya, N., and Shen, J. -R. (2009) Towards structural elucidation of eukaryotic photosystem II: Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of photosystem II from a red alga, *Biochim. Biophys. Acta* 1787, 121-128.
- Suzuki, T., Minagawa, J., Tomo, T., Sonoike, K., Ohta, H., and Enami, I. (2003) Binding and functional properties of the extrinsic proteins in oxygen-evolving photosystem II particle from a green alga, *Chlamydomonas reinhardtii* having his-tagged CP47, *Plant Cell Physiol.* 44, 76-84.
- Suzuki, T., Tada, O., Makimura, M., Tohri, A., Ohta, H., Yamamoto, Y., and Enami, I. (2004) Isolation and characterization of oxygen-evolving photosystem II complexes retaining the PsbO, P and Q proteins from *Euglena gracilis*, *Plant Cell Physiol.* 45, 1168-1175.
- Bricker, T. M., and Burnap, R. L. (2005) The Extrinsic Proteins of Photosystem II, in *Photosystem II: The water/plastoquinone oxido-reductase of photosynthesis* (Wydrzynski, T. and Satoh, K., Eds.) pp 95-120, Springer, Dordrecht.
- Enami, I., Okumura, A., Nagao, R., Suzuki, T., Iwai, M., and Shen, J.-R. (2008) Structures and functions of the extrinsic proteins of photosystem II from different species, *Photosynth. Res.* 98, 349-363.
- Nelson, D. M., Treguer, P., Brzezinski, M. A., Leynaert, A., and Queguiner, B. (1995) Production and dissolution of biogenic silica in ocean: revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation, *Global Biogeochem. Cycles* 9, 359-372.
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T., and Falkowski, P. G. (1998) Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components, *Science* 281, 237-240.
- Falkowski, P. G., Katz, M. E., Knoll, A. H., Quigg, A., Raven, J. A., Schofield, O., and Taylor, F. J. (2004) The evolution of modern eukaryotic phytoplankton, *Science* 305, 354-360.
- Martinson, T. A., Ikeuchi, M., and Plumley, F. G. (1998) Oxygen-evolving diatom thylakoid membranes, *Biochim. Biophys. Acta* 1409, 72-86.
- Nagao, R., Ishii, A., Tada, O., Suzuki, T., Dohmae, N., Okumura, A., Iwai, M., Takahashi, T., Kashino, Y., and Enami, I. (2007) Isolation and characterization of oxygen-evolving thylakoid membranes and Photosystem II particles from a marine diatom, *Chaetoceros gracilis*, *Biochim. Biophys. Acta* 1767, 1353-1362.
- Ikeda, Y., Satoh, K., and Kashino, Y. (2005) Characterization of photosystem I complexes purified from a diatom, *Chaetoceros gracilis*, in *Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives* (van der Est, A. and Bruce, D., Eds.) pp 38-40.
- Jeffrey, S. W., and Humphrey, G. F. (1975) New spectrophotometric equation for determining chlorophylls *a*, *b*, *c1* and *c2* in higher plants, algae and natural phytoplankton, *Biochem. Physiol. Pflanzen* 167, 191-194.
- Yamamoto, Y., Doi, M., Tamura, N., and Nishimura, M. (1981) Release of polypeptides from highly active O₂-evolving photosystem-2 preparation by Tris treatment, *FEBS Lett.* 133, 265-268.
- Okumura, A., Nagao, R., Suzuki, T., Yamagoe, S., Iwai, M., Nakazato, K., and Enami, I. (2008) A novel protein in Photosystem II of a diatom *Chaetoceros gracilis* is

- one of the extrinsic proteins located on luminal side and directly associates with PSII core components, *Biochim. Biophys. Acta* 1777, 1545-1551.
20. Armbrust, E. V., Berges, J. A., Bowler, C., Green, B. R., Martinez, D., Putnam, N. H., Zhou, S., Allen, A. E., Apt, K. E., Bechner, M., Brzezinski, M. A., Chaal, B. K., Chiovitti, A., Davis, A. K., Demarest, M. S., Detter, J. C., Glavina, T., Goodstein, D., Hadi, M. Z., Hellsten, U., Hildebrand, M., Jenkins, B. D., Jurka, J., Kapitonov, V. V., Kröger, N., Lau, W. W., Lane, T. W., Larimer, F. W., Lippmeier, J. C., Lucas, S., Medina, M., Montsant, A., Obornik, M., Parker, M. S., Palenik, B., Pazour, G. J., Richardson, P. M., Ryneerson, T. A., Saito, M. A., Schwartz, D. C., Thamtrakoln, K., Valentin, K., Vardi, A., Wilkerson, F. P., and Rokhsar, D. S. (2004) The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution, and metabolism, *Science* 306, 79–86.
21. Oudot-Le Secq, M. P., Grimwood, J., Shapiro, H., Armbrust, E. V., Bowler, C., and Green, B. R. (2007) Chloroplast genomes of the diatoms *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana*: comparison with other plastid genomes of the red lineage, *Mol. Genet. Genomics* 277, 427–439.
22. Nagao, R., Tomo, T., Noguchi, E., Nakajima, S., Suzuki, T., Okumura, A., Kashino, Y., Mimuro, M., Ikeuchi, M., and Enami, I. (2009) Purification and characterization of a stable oxygen-evolving Photosystem II complex from a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*, *Biochim. Biophys. Acta* (in press).

Isolation and Characterization of Oxygen-Evolving Photosystem II Particles from a Marine Centric Diatom, *Chaetoceros gracilis*

Ryo Nagao^{1, *}, Tatsuya Tomo², Masahiko Ikeuchi¹, Isao Enami²

¹Department of Life Sciences (Biology), Graduate School of Arts and Science, University of Tokyo

²Department of Biology, Faculty of Science, Tokyo University of Science

研究紹介

^{11}C を用いた光合成産物のイメージング[§]

日本原子力研究開発機構 量子ビーム応用研究部門

バイオ応用技術研究ユニット ポジトロンイメージング動態解析研究グループ

鈴木 伸郎

1. はじめに

放射性同位元素 (RI) を用いたトレーサー実験は、生体内の様々な物質の代謝経路や局在位置を追跡する手法として古くから生命科学研究に用いられており、光合成の研究分野においては、カルビン・ベンソン回路の同定に β 崩壊核種である ^{14}C トレーサーが用いられたことはあまりにも有名である。RIトレーサーの検出法の一つであるオートラジオグラフィは、生体内のRIトレーサーの局在位置を視覚化する古典的な研究手法であるが、生体サンプルをX線フィルム (現在ではイメージングプレートに代替) に圧着させ、暗所で露光させるという「侵襲的」な放射線検出法であるため、特定の部位におけるトレーサー量の経時変化のデータを得ることは非常に困難である。一方、日本原子力研究開発機構 (原子力機構) では、ポジトロン放出 (β^+ 崩壊) 核種をRIトレーサーとして使い、positron-emitting tracer imaging system (PETIS) と呼ぶイメージングシステムを用いて、炭素^{1,2)}、窒素³⁾および金属元素^{4,5)}などの植物栄養の体内動態を「非侵襲的」に可視化する研究を行っている。本稿では、我々のグループが行っているPETISを用いたポジトロンイメージング研究のうち、炭素のポジトロン放出核種である ^{11}C を用いた光合成産物のイメージングに焦点を絞って、その概略と研究例を紹介したい。

2. ^{11}C を用いた光合成産物のイメージング

ポジトロンイメージングとは、 β^+ 崩壊により放出されるポジトロンの存在位置を非接触・非破壊で画像化することを指す。イメージングの原理は、1) ポ

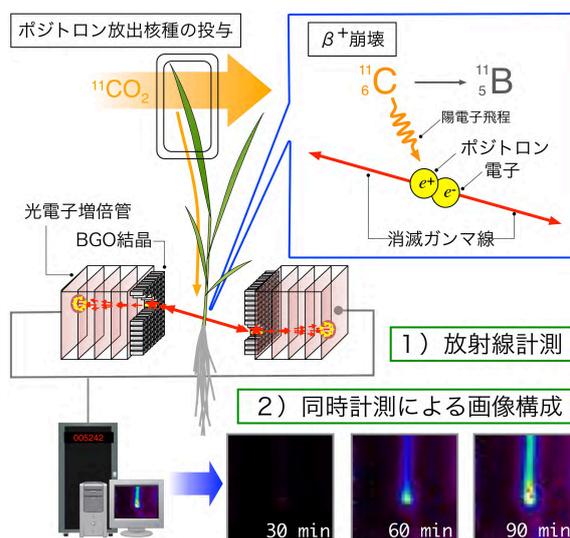


図1 ポジトロンイメージングの原理

検出器に入射したガンマ線はBGO結晶内でシンチレーション光を発生し、光電子増倍管により増幅され、計測される。一对の検出器で同時計測された放射線をポジトロン放出核種トレーサー由来の消滅ガンマ線とし、位置情報を処理することでトレーサーの分布図の画像を構成する。

ポジトロン放出核種に由来するポジトロン (陽電子) が電子と結合して消滅する際に 180° 反対方向に同時に発生する消滅ガンマ線を、対向配置した入射位置検出器で検出し (放射線計測)、2) それぞれの検出器上の入射地点を直線で結んだ中点がポジトロン放出核種の存在位置とし、この情報から画像を構築する (同時計測による画像構成)、という2つのステップに分けられる (図1)。現在我々が用いている平面型のポジトロンイメージング装置 (浜松ホトニクス製⁶⁾) は、有効視野が縦 19 cm × 横 12 cm、空間分解能が 2 mm 程度、時間分解能が 10 sec という性能

[§] 第9回日本光合成研究会シンポジウム ポスター賞受賞論文

* 連絡先 E-mail: suzui.nobuo@jaea.go.jp

表1 PETISで利用可能な植物研究用ポジロン放出核種標識トレーサー

Nuclide	Half life	Chemical forms for plant studies
^{11}C	20 min	$[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$, $[^{11}\text{C}]\text{methionine}$
^{13}N	10 min	$[^{13}\text{N}]\text{NO}_3^-$, $[^{13}\text{N}]\text{NH}_4^+$, $[^{13}\text{N}]\text{N}_2$
^{15}O	2.0 min	$[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$
^{18}F	110 min	$[^{18}\text{F}]\text{F}^-$, $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$, $[^{18}\text{F}]\text{proline}$
^{22}Na	950 day	$^{22}\text{Na}^+$
^{48}V	16 day	$[^{48}\text{V}]\text{H}_2\text{VO}_4^-$
^{52}Mn	5.6 day	$^{52}\text{Mn}^{2+}$
^{52}Fe	8.3 hour	$^{52}\text{Fe}^{2+}$, $^{52}\text{Fe}^{3+}$
^{62}Zn	9.2 hour	$^{62}\text{Zn}^{2+}$
^{64}Cu	12.7 hour	$^{64}\text{Cu}^{2+}$
^{107}Cd	6.5 hour	$^{107}\text{Cd}^{2+}$

を持つ。有効視野は資金次第でさらなる拡大が可能であるが、空間分解能については、RIからポジロンが放出される位置と電子に結合し消滅ガンマ線を発生する位置との間に数ミリオーダーの空間的なズレ（陽電子飛程）が存在するため、今以上の向上は原理的に不可能とされている。よってポジロンイメージングは、細胞レベルではなく、組織・器官レベルでの物質動態の可視化に適していると言える。

PETISとは、植物研究に特化したポジロンイメージング技術の総称であり、ポジロン放出核種標識トレーサーを製造する技術、トレーサーを生きた植物体に投与し、体内での動きを非侵襲的・定量的に画像化する技術、そして生物学的な知見を得るために動画データの数理的解析を行う技術の三つの柱から成る⁷⁾。現在のPETISでは十数種類のポジロン放出核種標識トレーサーが利用可能であり（表1）、現在も更なるトレーサーの開発を進めている。 ^{22}Na 以外のトレーサーは半減期が数分から数時間と非常に短いため、原子力機構・高崎量子応用研究所内のサイクロトロン加速器を用いて、自ら製造している。

二酸化炭素のポジロン放出核種標識トレーサーである $^{11}\text{CO}_2$ は、窒素ガスにプロトンビームを照射することで生じる原子核反応 ($^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$) を利用して製造する（図2）。微量の $^{11}\text{CO}_2$ を含む窒素ガスを照射室から精製室まで遠隔操作で輸送し、液体窒素で冷却して $^{11}\text{CO}_2$ のみを凝固させた後、イメージングを行う実験室まで人力で輸送する。1回のイメージング

に用いる $^{11}\text{CO}_2$ の放射エネルギーは 10~100 MBq (30~300 fmol に相当) であり、通常大気と混合し、流量が制御可能なサーキュレーションシステムとアクリル製セルを介して供試植物に投与する。 $^{11}\text{CO}_2$ が葉内に取り込まれ、光合成により同化され、 ^{11}C 標識の糖となって転流する過程を、ポジロンイメージング装置を用いて最短で10秒毎に撮像する。

^{11}C を用いた光合成産物のイメージングの利点の一つとして、同一個体を用いた繰り返し測定が可能である点が挙げられる。 ^{11}C は半減期が20.4分と短いため、 $^{11}\text{CO}_2$ を投与して約2時間の間イメージングを行った後、1時間程度のインターバルを置くことで、最初に投与した $^{11}\text{CO}_2$ 由来の放射線はほぼ無視して良い程度にまで減衰する。イメージング装置は温度・湿度・光強度が制御された人工気象器内に設置されているので、これらの外的環境の変化や、薬剤等の人為的な処理によって生じる炭素動態の応答を追跡することが可能である。

3. 動画データの数理的解析

以上の方法で得られる ^{11}C の動画は、言わば「連続したオートラジオグラム」であるが、これらのデータを数理的に解析することで、動画から植物の様々な生理パラメータを抽出することが可能である。具体的には、動画内に関心領域 (region of interest; ROI)を設定し、ROI内の放射エネルギーの経時変化のグラフ (time-activity curve; TAC) を作成し（図3）、このTACを様々な数理モデルに当てはめ、生理

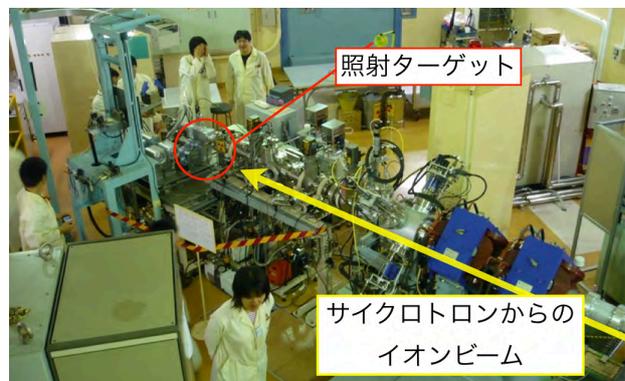


図2 RIを製造するイオンビーム照射室の様子

サイクロトロンで加速されたイオンビームは真空ラインを通してRI製造用の照射室（照射中は入室禁止）に輸送される。ビームラインの末端に照射ターゲットを設置し、原子核反応によりRIを製造する。

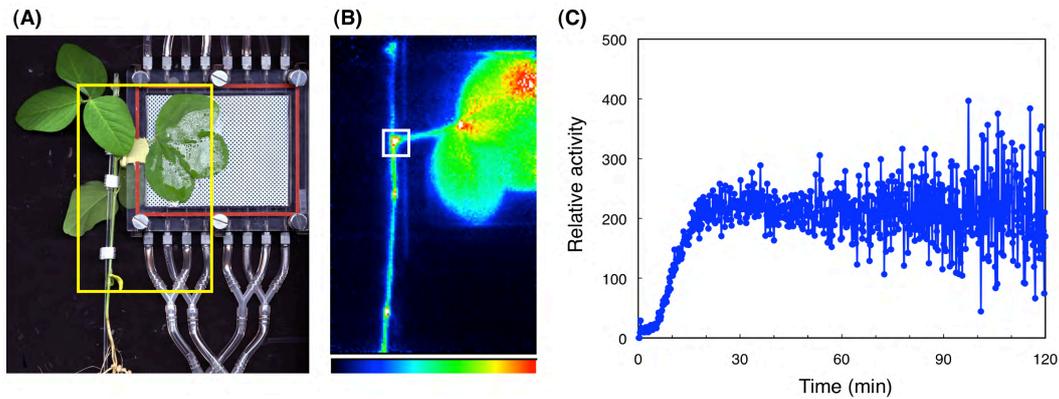


図3 PETISで得られるデータの解析例

(A) イメージングに用いた植物の写真。本例では播種後20日のダイズを用い、第1本葉に20 MBqの ^{11}C を投与した。黄色枠はPETISの視野を示す。(B) PETISで撮像した ^{11}C シグナルの分布画像。白枠は第1本葉の葉柄の節部分に設定した関心領域 (ROI)。(C) ROI内の放射エネルギーの経時変化のグラフ (TAC)。

パラメーターを算出している。以下、過去に我々のグループから報告した数理的解析の2例を紹介する。

光合成産物の輸送速度と分配割合

通常大気中濃度 (350 ppm) よりも高い濃度 (1000 ppm) の CO_2 を植物の葉に与えた際の光合成産物の輸送の変化を解析した。 ^{11}C トレーサーをソラマメの葉に投与し、葉から茎を介して根へと向かう ^{11}C 標識の光合成産物の動態をPETISにより撮像した。茎部分にROIを複数設定して作成したTACに対し、数理的モデリング法の一つである伝達関数解析法を適用することにより、茎を通る光合成産物の輸送速度の分布と茎の組織への分配の割合を定量的に算出した。その結果、高濃度条件下では通常条件下と比べ、茎中の輸送速度が一様に上昇し、根側に分配される割合 (茎全体で積み下ろされる炭素の量を100とした) の値が24%から34%へと増加することが明らかとなった⁸⁾。

二酸化炭素の固定速度と光合成産物の送り出し率

二酸化炭素の固定から光合成産物の送り出しまでの生理反応を、外界・葉・葉柄の3つの箱に分けたコンパートメント解析法によりモデル化し、「二酸化炭素固定速度」および「光合成産物送り出し率」の生理パラメーターを設定した。本モデルから ^{11}C トレーサー濃度を推定する数式を構築し、PETISによる実測値と比較することでモデルの妥当性を検証したところ、推定値と実測値が非常に良く一致した。このことから、上記の二つの生理パラメーターをPETIS

の動画データを用いて算出することが可能となった⁹⁾。

さらに最近では、数センチ角のオーダーであったROIの範囲を、PETISの画素1ピクセル (1.1 mm^2) にまで狭め、二酸化炭素の固定速度などの生理パラメーターの値をピクセル毎に算出し、画像化する試みを行っている。こうして得られる「Functional Image (機能画像)」により、従来の計測法では見えなかった植物の新たな生理現象を捉えることを期待している。

4. おわりに

現在のところ、 ^{11}C 標識の光合成産物のイメージングが実施可能である国内の施設は原子力機構のみであるが、海外では、ドイツ・Research Centre JülichにおけるPlanTIS (plant tomographic imaging system)¹⁰⁾ および米国・Duke UniversityにおけるVIPER (versatile imager for positron emitting radiotracers)¹¹⁾の2つのシステムにより ^{11}C 標識の光合成産物のイメージング研究が行われている。また、東京大学・中西友子教授の研究室において、植物研究用の非破壊的 β 線イメージング装置が開発され¹²⁾、 ^{14}C -アラニンのイメージングが行われている¹³⁾ことから、 ^{14}C 標識の光合成産物のイメージングにも期待が持てる。

近年、生命科学において「脱アイソトープ」の流れがあり、RIの利用自体が敬遠されがちである。一方で、本稿で紹介したポジトロンイメージングを含むRIイメージングは、GFPに代表される蛍光イメージングと共に、分子イメージング研究のツールとして医学薬学分野で盛んに用いられている¹⁴⁾。我々は、生体

内の物質動態を「非侵襲的、高感度、高定量的」に検出可能なRIの利点を最大限に活かし、植物科学における新たな発見ができればと考えている。サイクロトロンを用いてRIを製造するという都合上、イメージング実験の回数が非常に限られている状況ではあるが、皆様の貴重なご助言・ご協力を賜りながら、植物における分子イメージング研究を推進していきたい。

Received November 11, 2009, Accepted November 16, 2009, Published December 31, 2009

参考文献

1. Kikuchi, K., Ishii, S., Fujimaki, S., Suzui, N., Matsuhashi, S., Honda, I., Shishido, Y., and Kawachi, N. (2008) Real-time Analysis of Photoassimilate Translocation in Intact Eggplant Fruit using ^{11}C and a Positron-emitting Tracer Imaging System, *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 77, 199-205.
2. Suwa, R., Fujimaki, S., Suzui, N., Kawachi, N., Ishii, S., Sakamoto, K., Nguyen, N.T., Saneoka, H., Mohapatra, P.K., Moghaieb, R.E., Matsuhashi, S., and Fujita, K. (2008) Use of positron-emitting tracer imaging system for measuring the effect of salinity on temporal and spatial distribution of ^{11}C tracer and coupling between source and sink organs, *Plant Sci.* 175, 210-216.
3. Ishii, S., Suzui, N., Ito, S., Ishioka, N.S., Kawachi, N., Ohtaka, N., Ohyama, T., and Fujimaki, S. (2009) Real-time imaging of nitrogen fixation in an intact soybean plant with nodules using ^{13}N -labeled nitrogen gas, *Soil Sci. Plant Nutr.* 55, 660-666.
4. Tsukamoto, T., Nakanishi, H., Kiyomiya, S., Watanabe, S., Matsuhashi, S., Nishizawa, N.K., and Mori, S. (2006) ^{52}Mn translocation in barley monitored using a positron-emitting tracer imaging system, *Soil Sci. Plant Nutr.* 52, 717-725.
5. Tsukamoto, T., Nakanishi, H., Uchida, H., Watanabe, S., Matsuhashi, S., Mori, S., and Nishizawa, N.K. (2009) ^{52}Fe translocation in barley as monitored by a positron-emitting tracer imaging system (PETIS): evidence for the direct translocation of Fe from roots to young leaves via phloem, *Plant Cell Physiol.* 50, 48-57.
6. Uchida, H., Okamoto, T., Ohmura, T., Shimizu, K., Satoh, N., Koike, T., and Yamashita, T. (2004) A compact planar positron imaging system, *Nuclear Inst. and Methods in Physics Research, A* 516, 564-574.
7. Fujimaki, S. (2007) The Positron Emitting Tracer Imaging System (PETIS), a Most-advanced Imaging Tool for Plant Physiology, *ITE Lett. Batter. New Technol. Med.* 8, 403-413.
8. Matsuhashi, S., Fujimaki, S., Kawachi, N., S.K., Ishioka, N.S., and Kume, T. (2005) Quantitative Modeling of Photoassimilate Flow in an Intact Plant Using the Positron Emitting Tracer Imaging System (PETIS), *Soil Sci. Plant Nutr.* 51, 417-423.
9. Kawachi, N., Sakamoto, K., Ishii, S., Fujimaki, S., Suzui, N., Ishioka, N.S., and Matsuhashi, S. (2006) Kinetic Analysis of Carbon-11-Labeled Carbon Dioxide for Studying Photosynthesis in a Leaf Using Positron Emitting Tracer Imaging System, *IEEE Trans. Nucl. Sci.* 53, 2991-2997.
10. Jahnke, S., Menzel, M.I., van Dusschoten, D., Roeb, G.W., Buhler, J., Minwuyet, S., Blumler, P., Temperton, V.M., Hombach, T., Streun, M., Beer, S., Khodaverdi, M., Ziemons, K., Coenen, H.H., and Schurr, U. (2009) Combined MRI-PET dissects dynamic changes in plant structures and functions, *Plant J.* 59, 634-644.
11. Kiser, M.R., Reid, C.D., Crowell, A.S., Phillips, R.P., and Howell, C.R. (2008) Exploring the transport of plant metabolites using positron emitting radiotracers, *HFSP J.* 2, 189-204.
12. Rai, H., Kanno, S., Hayashi, Y., Ohya, T., Nihei, N., and M. Nakanishi, T. (2008) Development of a Real-time Autoradiography System to Analyze the Movement of the Compounds Labeled with β -ray Emitting Nuclide in a Living Plant, *Radioisotopes* 57, 287-294.
13. Nihei, N., Masuda, S., Rai, H., and M. Nakanishi, T. (2008) Imaging Analysis of Direct Alanine Uptake by Rice Seedlings, *Radioisotopes* 57, 361-366.
14. 佐治英郎 (2008) 分子イメージングの概念と国内外における研究体制, 遺伝子医学MOOK 9, 37-40.

Non-invasive Imaging of Photoassimilate Flow using Carbon-11

Nobuo Suzui*

Quantum Beam Science Directorate, Japan Atomic Energy Agency

総説特集

「光合成研究 —化学からのアプローチ—」

人工分子で光合成系を組み立てる：キノンプールとその周辺

永田 央

(自然科学研究機構 分子科学研究所)

P. 119~127

光合成アンテナにおける(バクテリオ)クロロフィルの
エステル鎖の構造と機能

溝口 正, 民秋 均

(立命館大学 総合理工学院)

P. 128~135

植物の光合成に学ぶ色素増感太陽電池の研究開発

瀬川 浩司

(東京大学・先端科学技術研究センター)

P. 136~141

クロロフィルの分子化石ポルフィリンの地球科学

大河内 直彦, 柏山 祐一郎

(海洋研究開発機構 海洋極限環境生物圏領域)

P. 142~154

解説

人工分子で光合成系を組み立てる：キノンプールとその周辺[‡]

自然科学研究機構 分子科学研究所

永田 央*

1. はじめに

光合成の分子メカニズムについては、本誌の読者諸賢はよくご承知のことであろう。念のためにおさらいすると、酸素発生型光合成の場合、アンテナ複合体が捕集した光エネルギーが光化学系 II 中の P680 に伝達され、そこで電子移動が起こって P680 のカチオンラジカルとプラストキノンのアニオンラジカルが生じる。P680 のカチオンラジカルは酸素発生複合体から電子を受け取り、これを四回繰り返して酸素が発生する。一方、プラストキノンのアニオンラジカルは、もう一度 P680 から電子を受け取ってキノール型になった後、チラコイド膜中のキノンプールに放出される。キノンプール中のキノールはチトクロム *b₆f* 複合体でキノンへと再酸化され、電子がプラストシアニンに渡されて光化学系 I への伝達に備える(図1)。ここまででやっと明反応の半分ぐらいだが、残り半分と暗

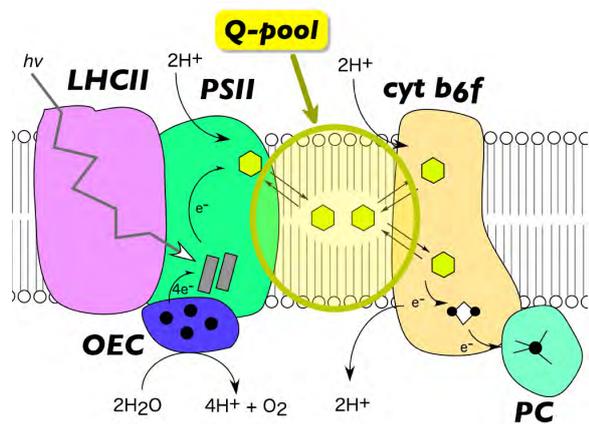


図1 光合成明反応の模式図(抜粋)

LHCII: アンテナ複合体II、PSII: 光化学系II、cyt *b₆f*: チトクロム *b₆f*、OEC: 酸素発生複合体、PC: プラストシアニン、黄色の六角形: プラストキノンのアニオンラジカル、Q-pool: キノンプール。

[‡] 解説特集「光合成研究 —化学からのアプローチ—」

* 連絡先 E-mail: toshi-n@ims.ac.jp

¹ 言うまでもないが、「自発的に」とは「自由意志で (voluntarily)」ではなく「物理法則の定めるところに従って (spontaneously)」の意味である。

反応まで含めて、この複雑な動作すべてが分子によって自発的に¹行われているさまは壮観というほかない。あたかも一流のダンサーたちによるコラボレーション舞台を見ているかのようである。

さて、筆者は有機化学者である。有機合成化学の方法論は過去50年ほどの間に大変な勢いで進歩した。Woodward がクロロフィルの全合成を報告したのは1960年だが¹⁾、その後も新しい合成手法が次々と開発され、また分離精製技術や機器分析の格段の進歩も相まって、有機化学が研究対象とする分子の領域は飛躍的に広がった。分子のサイズだけで言えば、生体分子よりも大きな分子がすでに合成可能となっている²⁾。しかし、このような合成化学の輝かしい発展とは裏腹に、化学による生命へのアプローチは遅々として進んでいない。これは無理もないことで、生命活動を支えている分子同士のコラボレーションを実現するためには各々の分子が高い能力を備えていなければならない、それには分子自体が途方もなく複雑な内部構造を持つ必要がある。ただ大きな分子を作るだけなら根気よく反応を繰り返して行けばよいが、複雑な内部構造を間違いなく作ることははるかに難しい。さらに、分子の内部構造と機能(能力)の相関は、複雑な分子の場合かならずしも明らかでなく、このため「どのような分子を作ればよいか」という設計自体が困難である。

光合成系は、この困難な状況に一筋の光明をもたらしてくれるかもしれない。まず、生命現象としての光合成については、分子レベルで非常に詳しい知見が得られている。化学の側から見れば、お手本になるものがたくさんある、と言える。また、光合成系は

目標とする機能が明確である。すなわち、化学反応の組み合わせで「光エネルギーを用いて全体として up-hill の反応を持続的に実現する」ことを目指せばよい。ボトムアップによる生命現象へのアプローチは、目標とする機能を定式化すること自体がしばしば困難であるが、光合成の場合その心配はない。さらに、新しいエネルギー生産の原理を追求するという点で、社会的にも一定の意義付けが可能である²。

以上のような観点から、筆者は合成分子を用いて光合成系に必要な諸機能を実現する研究に取り組んでいる。本稿では、(1)単一分子によるキノンプールのモデル化、(2)アルコールを電子源とする光反応の開発、(3)遷移金属錯体とポルフィリンの光励起電子移動、の三つの話題を紹介する。(1)は光励起によって還元力を蓄積する機能、(2)は電子の供給機能、(3)は還元生成物の生成機能を実現するものであり、これらを組み合わせて最も基本的な光合成システムを作ることが本研究の目標である。

2. 単一分子によるキノンプールのモデル化

酸素発生型光合成において、プラストキノンは二つの重要な役割を担っている。第一に、光化学系IIに結合しているキノン Q_A 、 Q_B は、反応中心の光反応による一電子反応過程をキノン/キノール(ヒドロキノン)の二電子過程に変換する。これは、化学的にはセミキノンの不均化反応³⁾(図2)と等価である。第二に、細胞膜中に埋め込まれたプラストキノンの集合体は⁴⁾、キノンまたはキノールを膜中に蓄積することで、光化学系と後続の酸化還元系(チトクロム b_6f)の間を橋渡しする。この集合体をキノンプールと呼ぶ。キノンプールは、二つの異なる酸化還元酵素が独立に動作できるメカニズムを提供しており、またキノールの拡散を空間的に限定することで化学ポテンシャルの低下を防ぐ効果がある。これらはいずれも重

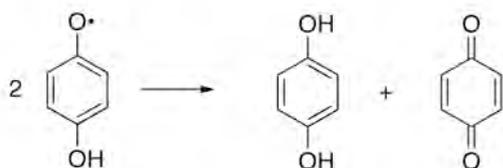


図2 セミキノラジカルの不均化反応

²あくまでも学術研究として、の話である。もっとも、100年先ぐらになんらかの形で実用につながっている可能性は否定しない。

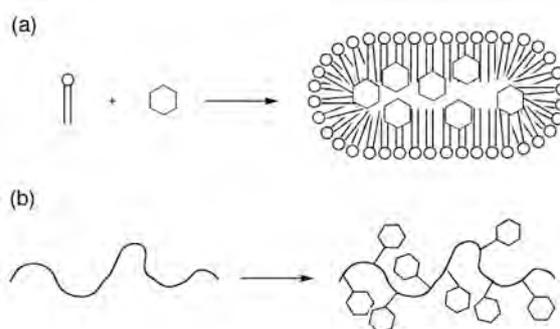


図3 人工キノンプールの設計案

要な役割で、人工分子系にも取り入れたい機能である。

生体膜中にあるキノンプールを人工分子系で実現するためには、(1)多数のキノン分子を一定の空間内に閉じこめることと、(2)その一定の空間の範囲内でキノンがある程度自由に運動できるようにすればよい。最も素直なアプローチは、両親媒性分子を用いてミセルやベシクルといった集合体を水中で形成させ、その疎水性部分にキノンを埋め込む方法である(図3(a))。実際、Mooreらはこの方法を用いて、光照射によりリポソーム膜を隔ててプロトン勾配を作ること成功している⁵⁾。しかし、この手法で得られるのは分子の複雑な集合体であり、その中の特定の分子の挙動を詳しく調べることは容易ではない。また、分子集合体は系の安定性や再現可能性について問題が起こりやすい。これとは別のアプローチとして、高分子の側鎖にキノンを化学結合させる方法が考えられる^{6,7)}(図3(b))。直鎖状の高分子は、少ない工程で合成できる点で有用であるが、個々のキノン分子の環境を同定することは不可能であり、やはり分子レベルでの詳細な解析には不向きである。

筆者らは、枝分かれを持ち、かつ決まった分子量を持つ高分子である dendrimer⁸⁾を基本骨格として採用した。Dendrimerは、一般的な高分子と異なり、化学的に単一のもを合成することが比較的容易である。また、結合の回転などでコンフォメーション変化が起きても、枝分かれの先の部分構造が入れ替わるのみで同じ構造になるため(図4)、溶液中での構造が予測しやすい。もう一点筆者らが特に注意したのは、Dendrimerの末端部でなく分岐部分にキノンを結合させることである⁹⁾(図5)。この分

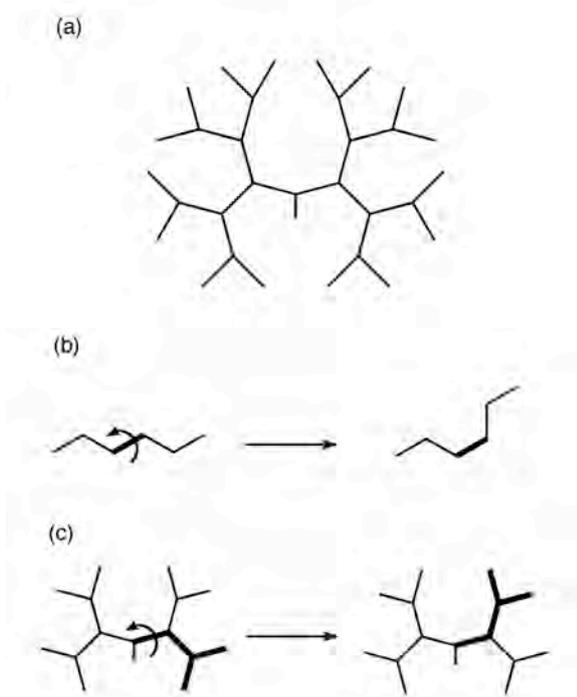


図4 (a) デンドリマーの一般構造。(b), (c) 直鎖状ポリマーとデンドリマーの構造変化。

太線の結合が回転すると (b) では分子の形が変わるが (c) では変わらない。

子設計では、中心部から外に向かってキノンが層状に積み上がっていく。このため、中心部の色素が励起されたときに、常に近傍にキノンが位置することになり、電子移動に好都合である。デンドリマーに複

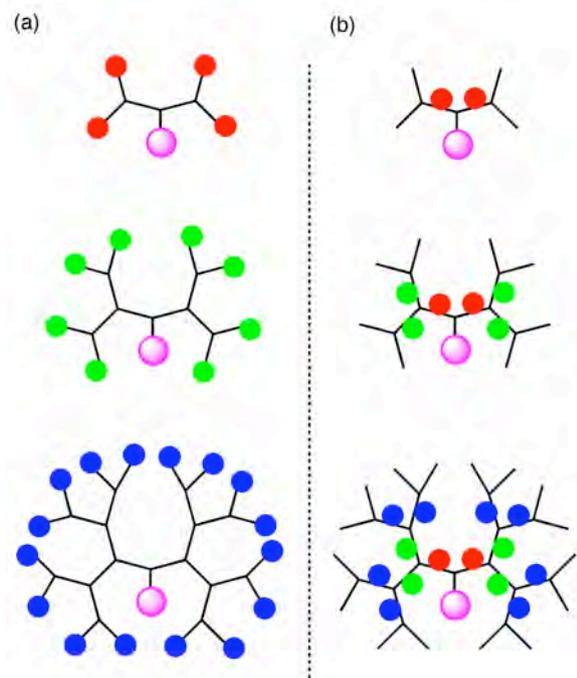


図5 デンドリマーの化学修飾
(a) 末端部を修飾、(b) 分岐部分を修飾。

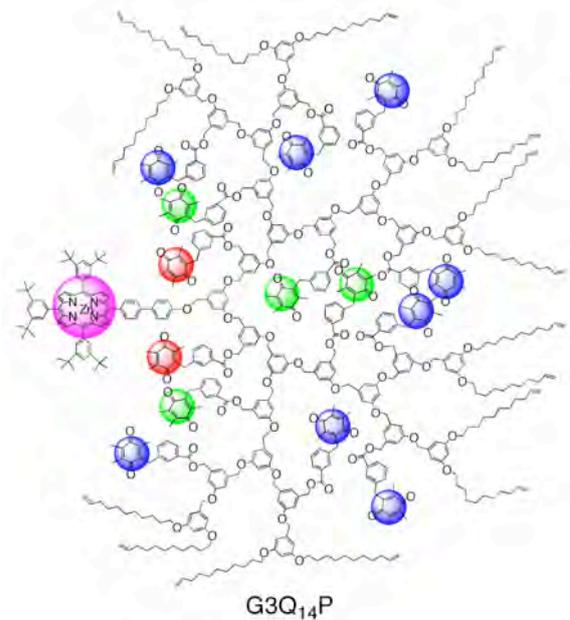


図6 人工キノンプール分子

赤、緑、青の印は、内側から数えて第一層～第三層に結合したキノン。紫はポルフィリン。

数の酸化還元活性基を導入する研究には先行例があり¹⁰⁻¹³、中にはキノンを用いた例もあるが¹⁴、ほとんどすべてデンドリマーの末端部に活性基が導入されている。筆者らの設計した分子は、中心の色素の近傍から遠く離れた場所まで万遍なくキノンが分布しており (図6)、キノンプールの特徴をよりよく再現するものであると言える。中心色素としては、亜鉛ポルフィリンを選択した。

図6の分子の合成には20以上の段階を要する^{15,16}。筆者らは研究時間の90%以上をこの化学合成に割いているため、この部分には少なからぬ思い入れがある

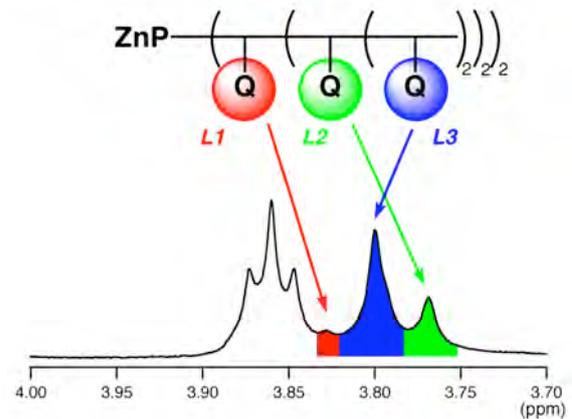


図7 図6の分子の¹H NMR (一部分)

色を塗ったピークがキノンに起因する。三種類のキノンが分離して観測された。

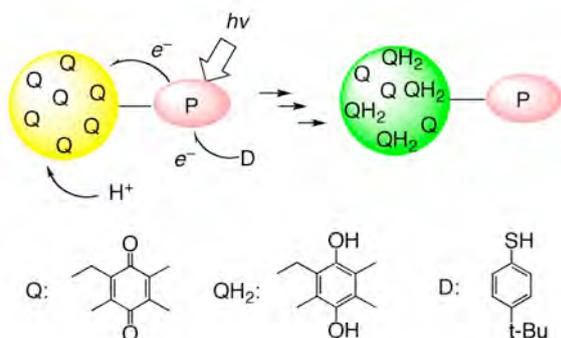


図8 光照射によるキノプールの還元 (模式図)

が、本稿では詳細は (涙をのんで) 割愛する。合成した化合物は、高速液体クロマトグラフィーで精製し、¹H, ¹³C NMR と MALDI-TOF 質量分析で同定した。この分子には、図6で色を分けて示したように、三種類の非等価なキノンが存在するが、¹H NMR でそれらを区別して観測することができた (図7)。

この分子について、光照射によるキノールの分子内蓄積を試みた (図8)。還元剤としては 4-tert-ブチルチオフェノールを用いた。チオフェノールは電子源としてだけでなく、プロトン源としても機能する。光源はハロゲンランプを用いたが、キノン自身の励起状態を経由する反応を抑えるため、色ガラスフィルターで 500 nm より短波長の光をカットした。¹H NMR で反応を追跡するため CDCl₃ (0.6 mL) を溶媒として用い、キノプール分子 (0.5 μmol)・チオフェノール (50 μmol; キノン1つあたり 3.5 当量)を溶かして、窒素雰囲気下 30°C で光照射した。結果は図9の通りで、三種類のキノンが対応するキノールに徐々に変換される様子が追跡できた。また、反応の進行とともにチオ

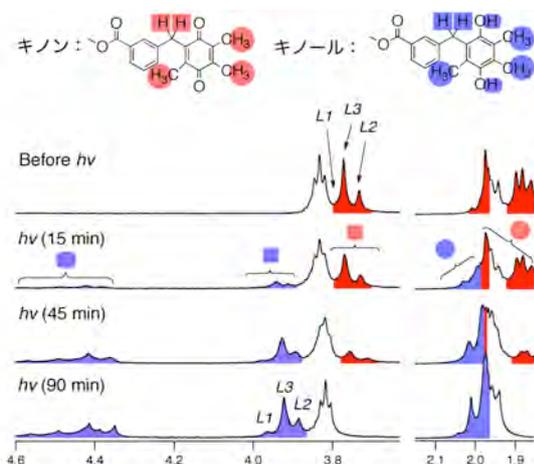
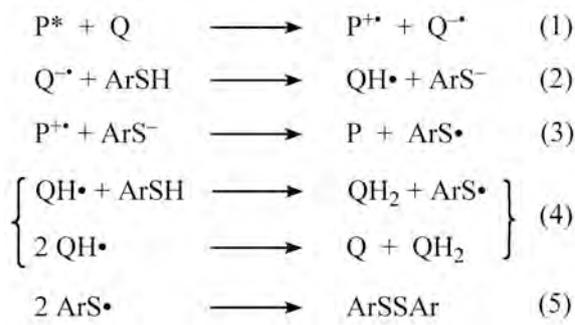


図9 図6の分子と 4-tert-ブチルチオフェノールの光反応 (¹H NMRにて追跡)

フェノールが酸化されたジスルフィドが生成しており、チオフェノールが電子源・プロトン源として機能していることが確かめられた (図9には示していない)。

この反応は暗所では進行せず、またポルフィリンが結合していない分子では極めて遅いため、ポルフィリンによる分子内の光増感が起きていることは間違いない。反応機構はまだ推測の域を出ないが、以下の一連の反応が起きていると考えるのが合理的である。



3. アルコールを電子源とする光反応の開発

前項で述べた通り、人工のキノプールに還元型キノールを蓄積させることができた。しかし、電子源としてのチオフェノールはあまりにも特殊な化合物であり、好ましい選択とは言えない。最も好ましい電子源はもちろん水であるが、水の酸化はそれ自体が化学的に極めて困難なテーマであり¹⁷⁾、光合成モデルの分子系に組み込むことは現段階では難しい。

筆者らは、水を電子源として使う系の前段階として、アルコールを電子源とする系を人工分子で組み立てようと考えた。前項と同様にポルフィリンとキノンの光化学を利用する場合、アルコールを酸化するのはポルフィリンのカチオンラジカルとなる。これは熱力学的には十分に可能な反応である (ポルフィリンの酸化電位: +0.95 V, アルコールの酸化電位: 約 -0.2 V, いずれも NHE 基準)。ところが実際には、ポルフィリンのカチオンラジカルが生成する条件でアルコールを共存させても、酸化反応はほとんど進行しない。これは、アルコールの一電子酸化生成物 (アルコキシルラジカル、RO•) が高エネルギー化合物であるため、電子移動で生成し難いためと考えられる。酸化反応を円滑に進めるためには、アルコールの一

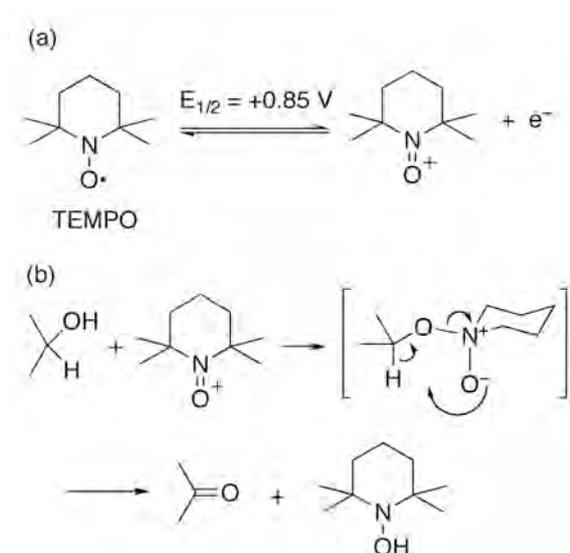


図10 (a) TEMPOの一電子酸化によるオキソアンモニウムカチオンの生成。(b) オキソアンモニウムによるアルコールの酸化。

電子酸化生成物を経由しない反応経路を用意しなければならない。

幸い、有機電気化学の分野でそのような反応が知られている。スピララベル剤として知られる安定フリーラジカルTEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidinyloxy) は、一電子酸化を受けてオキソアンモニウムカチオンとなり、これは塩基の存在下でアルコールを酸化してカルボニル化合物を与える (図10)^{18,19}。TEMPOの一電子酸化は+0.85Vで起こるため、ポルフィリンカチオンラジカルによる酸化が可能である。そこで、ポルフィリン・キノン・TEMPOの三成分系を用いて、アルコールの光酸化について検討した²⁰。

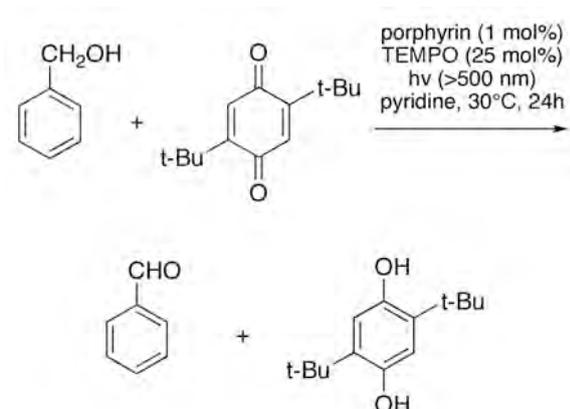


図11 ポルフィリン-TEMPO-キノン三成分系によるアルコールの光酸化

表1 アルコール光酸化の基質依存性

基質	生成物	収率 (%)
1-octanol	octanal	37
2-octanol	(2-octanone)	0
<i>trans</i> -2-octen-1-ol	<i>trans</i> -2-octenal	81
C ₆ H ₅ CH ₂ OH	C ₆ H ₅ CHO	84
4-ClC ₆ H ₄ CH ₂ OH	4-ClC ₆ H ₄ CHO	82
4-BrC ₆ H ₄ CH ₂ OH	4-BrC ₆ H ₄ CHO	68
4-MeC ₆ H ₄ CH ₂ OH	4-MeC ₆ H ₄ CHO	70
4-MeOC ₆ H ₄ CH ₂ OH	4-MeOC ₆ H ₄ CHO	65
4-O ₂ NC ₆ H ₄ CH ₂ OH	4-O ₂ NC ₆ H ₄ CHO	50

無水ピリジン (0.5 mL) 中にポルフィリン (1 μ mol)、TEMPO (25 μ mol)、2,5-ジ-*tert*-ブチル-1,4-ベンゾキノン (100 μ mol)、ベンジルアルコール (300 mmol)、*n*-ドデカン (50 μ mol、ガスクロマトグラフィーの内部標準)を溶かし、30°Cで500 nm以上の光を照射したところ、ベンズアルデヒドと2,5-ジ-*tert*-ブチル-1,4-ヒドロキノンが生成した (図11)。種々のアルコールに対して、一定時間後の生成物の量を比較したのが表1である。アリル型・ベンジル型アルコールが最も速く、一級アルコールがこれに次ぎ、二級アルコールは全く反応しなかった。これは、TEMPOによるアルコールの電気化学的酸化と同じ傾向である¹⁸。また、TEMPOを加えない場合は反応は全く進行しなかった。このことから、TEMPOが一電子酸化されたオキソアンモニウムカチオンがアルコールを酸化していると考えられる。さらに、光照射を行わない場合やポルフィリンを加えない場合も、反応は全く進行しなかった。ポルフィリンとTEMPOの間の直接の光励起電子移動はエネルギー的に困難である。従って、次のような反応機構を考えるのが妥当である。すなわち、ポルフィリンとキノンの間で光励起電子移動が起こり、生成したポルフィリンのカチオンラジカル

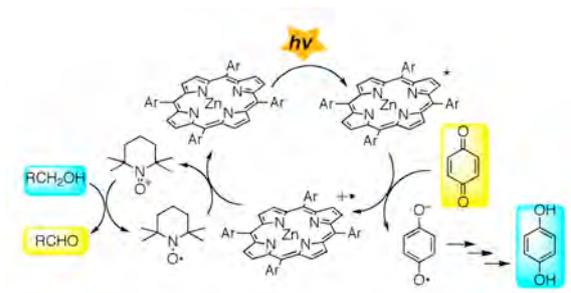


図12 アルコールの光酸化の模式図

[Reprinted with permission from ref. 20, Copyright 2009 The Royal Society of Chemistry.]

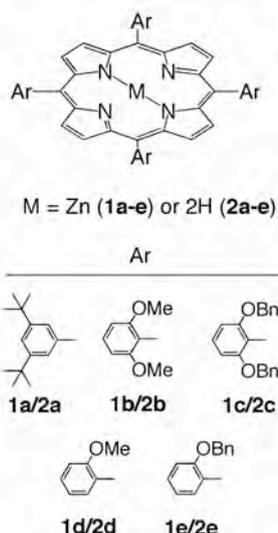
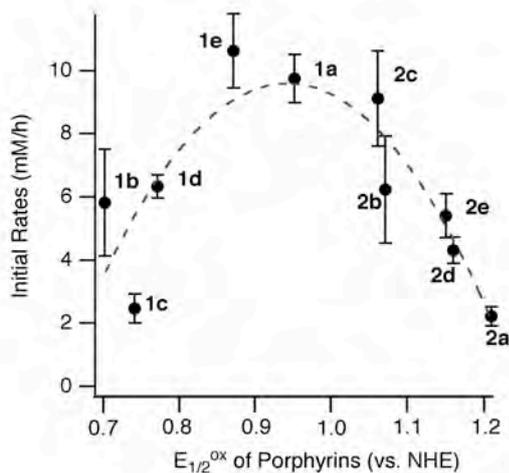


図13 ポルフィリンの酸化電位に対するアルコールの光酸化初期速度の依存性

が TEMPO を酸化し、生じたオキソアンモニウムカチオンがアルコールを酸化する (図12)。

ポルフィリンの酸化電位を系統的に変化させてこの酸化反応の初期速度を調べたところ、興味深いベル型の依存性が明らかになった (図13)。この結果は、図12の反応機構によって合理的に説明できる。つまり、ポルフィリンの酸化電位が低い時は、ポルフィリンカチオンラジカルの酸化力が低く、TEMPO を十分に酸化することができない。一方、ポルフィリンの酸化電位が高い時は、ポルフィリンカチオンラジカルが生成し難いため、キノンとの光励起電子移動の速度が低下する。この結果は、多段階の酸化還元触媒サイクルを設計する際に、酸化電位の注意深い調節が必要であることを示している。

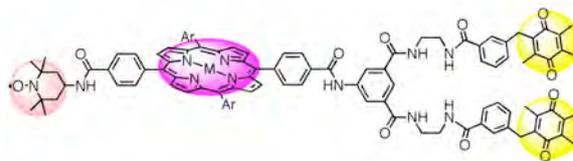


図14 TEMPO-ポルフィリン-キノンの三元系分子

この三成分の大きな問題点は、酸化活性種のオキソアンモニウムカチオンが生成物の一つであるキノール (ヒドロキノン) を酸化してキノンに戻してしまうために、キノンを完全にキノールに変換できないことである。この副反応は、キノンやTEMPOが溶液中を自由に拡散する限り避けられない。しかしながら、キノンやTEMPOの空間配置を制限して、酸化活性種と生成物の出会いを避けるようにすれば、無駄なキノールの再酸化を防ぐことができる。これは前項で述べたキノンプールの考え方とも共通している。そこで、分子内にTEMPOとキノンの両方を持つ分子を合成した (図14)。この分子は、ポルフィリン環をはさんで片側にTEMPO、もう片側にキノンを結合したものである。この分子に還元剤としてチオフェノールを加えて照射すると、キノンがキノールに変換されることが確認できた。残念ながら、この分子ではアルコールを還元剤としたキノールの生成には成功しなかった。失敗の原因は主に二つ考えられる。一つは、オキソアンモニウムカチオンによるアルコールの酸化が比較的遅いため、セミキノンアニオンラジカルからの電荷再結合が優先してしまうこと。もう一つは、オキソアンモニウムカチオンがアルコールを一度酸化したあと、元の状態に戻るために一電子酸化が必要であるが、その過程がうまく進行しないこと。これらは分子設計の改良により克服できると考えており、現在改良版の分子の合成に取り組んでいるところである。

4. 遷移金属錯体とポルフィリンの光励起電子移動

前項で述べた通り、光合成機能を人工分子で実現するためには、電子移動と酸化還元反応をカップルさせる適切な触媒を組み込む必要がある。このような触媒として、TEMPOのような有機ラジカルも利用できるが、より一般的には一電子酸化還元を得意とする遷移金属化合物が有用である。生体の光合成系でも、マンガン (酸素発生複合体)、鉄 (チ

トクロム b_6/f 、光化学系I)、銅 (プラストシアニン) などさまざまな遷移金属が重要な役割を担っている。これらがすべて第一遷移金属であることに注目していただきたい。第一遷移金属は、地殻中の存在量が多いため生体が利用しやすい上に、不対電子を持った状態が安定に存在できるため、一電子酸化還元特に適している。しかしながら、複雑な有機分子と第一遷移金属を組み合わせた分子は合成上の困難が大きく、あまり研究は進んでいない。最大の問題点は、多くの第一遷移金属は配位子との結合が比較的弱く、電子移動で金属の価数が変化すると容易に結合が切断されて分解してしまうことである。生体系では、タンパク質が特定の構造を保っており、金属に対して適切な配位環境を提供している。このため、金属の価数が変化しても分解することなく構造を保つことができる。人工分子でも同じように、金属に合わせた分子の作り込みが必要である。また、光反応を円滑に進行させるには、有機色素と金属錯体の複合分子を用いることが望ましい。

筆者らは、以上のような考えのもとに、第一遷移金属を特定の構造で結合できる多座配位子や²²⁻²⁴⁾、それらを用いた有機色素との複合分子の合成に取り組んでいる^{25,26)}。本稿ではコバルト錯体を用いた取り組みについて紹介する。

コバルトは-1から+5までのさまざまな酸化数をとることができる²⁷⁾。特に安定なのは +2, +3 価である。+2/+3の酸化還元過程は、電子伝達剤として光反

応系でよく利用されている^{28,29)}。一方、+1価は強い還元力を持ち、水素発生³⁰⁻³²⁾や有機化合物の還元³³⁾を行う。これらの特徴は人工の光合成系でも有用であると考え、コバルト錯体とポルフィリン有機色素の複合分子の合成を試みた。

図15(a)は、ポルフィリンと+3価コバルト錯体をイミダゾール配位子を通して結合したものである²⁶⁾。コバルト +2/+3 酸化還元系の大きな特徴として、+2価は高スピンの配位子置換を起こしやすく、+3価は低スピンの配位子置換を起こしにくい点がある。図15(a)のコバルトは+3価だが、ポルフィリンからの光励起電子移動で+2価になると配位子置換を起こしやすくなる。その結果、コバルトに結合しているイミダゾール配位子が溶媒と置換して、コバルト錯体部分がポルフィリンから分離する。

コバルト錯体とポルフィリンの間で光励起電子移動とその後続反応が可能であることがわかったので、次に還元反応の触媒として機能するコバルト錯体を結合することを試みた。図15(b)は+3価コバルト-Cp*錯体 (Cp* = ペンタメチルシクロペンタジエニル基) をポルフィリンに結合したものである³⁴⁾。類似のコバルト錯体が電気化学的にH⁺を還元することがわかっているため^{31,35)}、光による水素発生反応を期待した。しかしながら、H⁺還元にはコバルトの+1価状態が必要である。+3価のコバルトから始めると二電子を注入することになり、光励起電子移動での直接駆動は困難となる。実際、図15(b)の化合物では、光励起電子移動は起きるが還元反応は実現できなかった。

光励起電子移動によって還元力の強い+1価コバルトを発生させるためには、通常安定状態でコバルトが+2価となっている必要がある。ここで問題となるのは、先にも述べたように+2価のコバルトは配位子置換を起こしやすいことである。さらに、高スピンの+2価コバルトは常磁性であるため、¹H NMRのシグナルが広幅化して解釈が難しくなる。このため、+2価のコバルトを含む複雑な分子を確実に合成するた

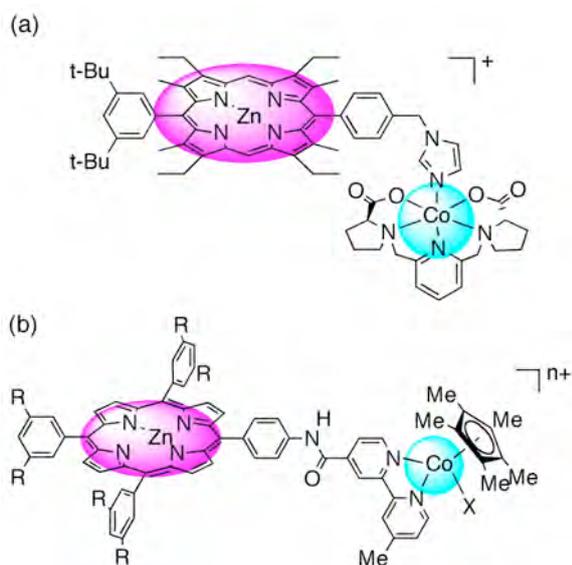


図15 ポルフィリン-コバルト錯体結合化合物

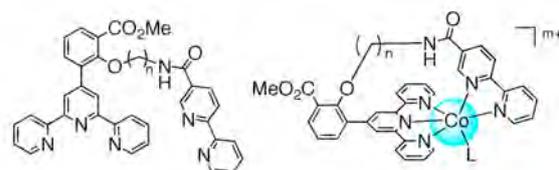


図16 ターピリジン・ピピリジンを結合した五座配位子 (左)。+2価コバルトと安定な錯体を作る (右)。

めには、+2価のコバルトと高い親和性を持つ配位子の部分構造を作っておき、合成の最終段階でコバルトを挿入するほかない。このために開発したのが図16の配位子である²⁴⁾。図15の配位子がアニオン性の配位子（それぞれカルボキシレートとCp*）を持っていたのに対し、図16の配位子は中性であり、より低い原子価状態を安定化する。実際、図16の配位子は高い収率で単核の+2価コバルト錯体を生成することがわかった。

このテーマの最終目標は、2. で述べたキノンプールのモデル分子に還元体キノールを蓄積し、その還元力を用いて低原子価コバルト錯体を生成させることである。そのためには、図16のような化合物とキノンプール・ポルフィリンを一体化した分子が望ましい。現在、そのような分子の合成に取り組んでいるところである。

6. おわりに

「人工分子で光合成系を組み立てる」という勇ましい目標に対して、これまで達成できた内容はあまりにも微々たるものでしかない。これはもちろん筆者の非才によるものである。このような研究がどれほどの意義のある成果を生み出すのかはわからないが、分子科学の可能性を少しずつでも押し広げていき、その先に生命へとつながる光が見えてくれば、一つの目的は達せられたと言ってよいと思う。気分は北山の愚公である³⁶⁾。天帝はたぶん現れてくれないだろうけど。

謝辞

意義があるかどうかかわからない研究につきあってくれた（くれている）共同研究者の皆様に深く感謝します。また、本稿執筆の機会をご提供下さった「光合成研究」編集委員会の皆様にも深く感謝します。

Received November 3, 2009, Accepted November 22, 2009,
Published December 31, 2009

参考文献

1. Woodward, R. B., Closs, G. L. Goff, E. Le., Ayer, W. A., Dutler, H., Leimgruber, W., Beaton, J. M., Hannah, J., Lwowski, W., Bickelhaupt, F., Hauck, F. P., Sauer,

- J., Bonnett, R., Ito, S., Valenta, Z., Buchschacher, P., Langemann, A., and Volz, H. (1960) The Total Synthesis of Chlorophyll, *J. Am. Chem. Soc.* 82, 3800–3802.
2. Ruiz, J., Lafuente, G., Marcen, S., Ornelas, C., Lazare, S., Cloutet, E., Blais, J.-C., and Astruc, D. (2003) Construction of Giant Dendrimers Using a Tripodal Building Block, *J. Am. Chem. Soc.* 125, 7250–7257.
3. Wong, S. K., Sytnyk, W., and Wan, J. K. S. (1972) Electron spin resonance study of the self-disproportionation of some semiquinone radicals in solution, *Can. J. Chem.* 50, 3052–3057.
4. Ort, D. R., and Yocum, C. F. (1996) Light Reactions of Oxygenic Photosynthesis, in *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*, pp 1–9, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
5. Steinberg-Yfrach, G., Liddel, P. A., Hung, S.-C., Moore, A. L., Gust, D., and Moore, T. A. (1997) Conversion of light energy to proton potential in liposomes by artificial photosynthetic reaction centres, *Nature*, 385, 239–241.
6. Kucera, J. (1986) The polymeric p- and o-quinones as the reactive supports for the enzymes immobilization, *Biotech. Bioeng.* 28, 110–111.
7. Takada, K., Gopalan, P., Ober, C. K., and Abruna, H. D. (2001) Synthesis, Characterization and Redox Reactivity of Novel Quinone-Containing Polymer, *Chem. Mater.* 13, 2928–2932.
8. Tomalia, D. A., Naylor, A. M., and Goddard, W. A. III. (1990) Starburst Dendrimers: Molecular-Level Control of Size, Shape, Surface Chemistry, Topology, and Flexibility from Atoms to Macroscopic Matter, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29, 138–175.
9. Kikuzawa, Y., and Nagata, T. (2004) Synthesis and Properties of New, Spatially Relaxed Dendrons Containing Internal Carboxyl Groups, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 77, 993–1000.
10. Valerio, C., Fillaut, J.-L., Ruiz, J., Guittard, J., Blais, J.-C., and Astruc, D. (1997) The Dendritic Effect in Molecular Recognition: Ferrocene Dendrimers and Their Use as Supramolecular Redox Sensors for the Recognition of Small Inorganic Anions, *J. Am. Chem. Soc.* 119, 2588–2589.
11. Leventis, N., Yang, J., Fabrizio, E. F., Rawashdeh, A.-M. M., Oh, W. S., and Sotiriou-Leventis, C. (2004) Redox-Active Start Molecules Incorporating the 4-Benzoylpyridinium Cation: Implications for the Charge Transfer Efficiency along Branches vs Across the Perimeter in Dendrimers, *J. Am. Chem. Soc.* 126, 4094–4095.
12. Turrin, C.-O., Chiffre, J., de Montauzon, D., Balavoine, G., Manoury, E., Caminade, A.-M., and Majoral, J.-P. (2002) Behavior of an Optically Active Ferrocene Chiral Shell Located within Phosphorus-Containing Dendrimers, *Organometallics* 21, 1891–1897.
13. Loiseau, F.; Campagna, S.; Hameurlaine, A., and Dehaen, W. (2005) Dendrimers Made of Porphyrin

- Cores and Carbazole Chromophores as Peripheral Units. Absorption Spectra, Luminescence Properties, and Oxidation Behavior, *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 11352–11363.
14. Rajesh, C. S., Capitosti, G. J., Cramer, S. J., and Modarelli, D. A. (2001) Photoinduced Electron-Transfer within Free Base and Zinc Porphyrin Containing Poly(Amide) Dendrimers, *J. Phys. Chem. B*, **105**, 10175–10188.
 15. Kikuzawa, Y., Nagata, T., Tahara, T., and Ishii, K. (2006) Photo- and Redox-Active Dendritic Molecules with Soft, Layered Nanostructures, *Chem. Asian J.* **1**, 516–528.
 16. Nagata, T., and Kikuzawa, Y. (2007) An approach towards artificial quinone pools by use of photo- and redox-active dendritic molecules, *Biochim. Biophys. Acta*, **1767**, 648–652.
 17. Eisenberg, R., and Gray, H. B. (2008) Preface on Making Oxygen, *Inorg. Chem.* **47**, 1697–1699.
 18. Semmelhack, M. F., Chou, C. S., and Cortes, D. A. (1983) Nitroxyl-Mediated Electrooxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 4492–4494.
 19. Ma, Z., and Bobbitt, J. M. (1991) Organic Oxoammonium Salts. 3. A New Convenient Method for the Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones, *J. Org. Chem.* **56**, 6110–6114.
 20. Nagasawa, T., Allakhverdiev, S. I., Kimura, Y., and Nagata, T. (2009) Photooxidation of alcohols by a porphyrin/quinone/TEMPO system, *Photochem. Photobiol. Sci.* **8**, 174–180.
 21. Nagata, T., Kikuzawa, Y., Nagasawa, T., and Allakhverdiev, S. I. (2009) Single-Molecular Quinone Pools: A Synthetic Model of Biochemical Energy Transducer, *Trans. MRS Jpn.* **34**, 505–508.
 22. Aikawa, K., and Nagata, T. (2000) Synthesis of a dinucleating ligand xanthene-bis(tris(2-pyridylmethyl)amine) and its manganese complex, *Inorg. Chim. Acta*, **306**, 223–226.
 23. Nagata, T., and Tanaka, K. (2000) Pentadentate Terpyridine-Catechol Linked Ligands and Their Cobalt(III) Complexes, *Inorg. Chem.* **39**, 3515–3521.
 24. Kon, H., and Nagata, T. (2009) Syntheses of the Terpyridine-Bipyridine Linked Binary Ligands and Structural and Redox Properties of Their Cobalt Complexes, *Inorg. Chem.* **48**, 8593–8602.
 25. Nagata, T. (1997) Synthesis and Characterization of Porphyrin-Dimanganese Composite Molecules, *Chem. Lett.* 127–128.
 26. Nagata, T., Kikuzawa, Y., and Osuka, A. (2003) Synthesis and photoreaction of a porphyrin-Co(III)-complex linked molecule, *Inorg. Chim. Acta*, **342**, 139–144.
 27. Cotton, F. A., and Wilkinson, G. (1988) Cobalt, in *Advanced Inorganic Chemistry, Fifth Edition*, pp 724–741, Wiley Interscience, New York, USA.
 28. Geiger, T., Nottenberg, R., Pelaprat, M.-L., and Grätzel, M. (1982) Effect of Doping and Solution Redox Relays on the Efficiency of Photocathodic Processes at the p-InP/Water Interface, *Helv. Chim. Acta*, **65**, 2507–2516.
 29. Sargeson, A. M. (1984) Encapsulated Metal Ions, *Pure Appl. Chem.* **56**, 1603–1619.
 30. Kellett, R. M., and Spiro, T. G. (1985) Cobalt(I) Porphyrin Catalysis of Hydrogen Production from Water, *Inorg. Chem.* **24**, 2373–2377.
 31. Koelle, U., and Paul, S. (1986) Electrochemical reduction of protonated cyclopentadienylcobalt phosphine complexes, *Inorg. Chem.* **25**, 2689–2694.
 32. Fihri, A., Artero, V., Razavet, M., Baffert, C., Leibl, W., and Fontecave, M. (2008) Cobaloxime-Based Photocatalytic Devices for Hydrogen Production, *Angew. Chem. Int. Ed.* **47**, 564–567.
 33. Sheffold, R., Rytz, G., Walder, L., Orlinski, R., and Chilmonczyk, Z. (1983) Formation of C–C Bonds Catalyzed by Vitamin B₁₂, *Pure Appl. Chem.* **55**, 1791–1797.
 34. Nagasawa, T., and Nagata, T. Unpublished result.
 35. Nagasawa, T., and Nagata, T. (2007) Synthesis and electrochemistry of Co(III) and Co(I) complexes having C₅Me₅ auxiliary, *Biochim. Biophys. Acta*, **1767**, 666–670.
 36. 「愚公移山」、列子、湯問篇。

Building Photosynthesis from Artificial Molecules: Quinone Pool and Neighborhood

Toshi Nagata*

National Institutes of Natural Sciences, Institute for Molecular Science

解説

光合成アンテナにおける(バクテリア)クロロフィルの エステル鎖の構造と機能[‡]

¹立命館大学総合理工学院生命科学部応用化学科, ²立命館大学総合理工学院薬学部薬学科
溝口 正^{1*}・民秋 均²

1. はじめに

植物や細菌の行う光合成では、クロロフィルやカロテノイドなどの光合成色素がタンパク質組織体を反応場とする見事な光捕集アンテナと反応中心を構築し、現存する系で最高の光電変換効率を実現している。これらの光合成生物では、生体が生存する環境下で最も効率よくエネルギー獲得できるように、自発的な光合成能の最適化がなされている。特に光捕集を担うアンテナ系色素タンパク質複合体では、多彩で巧みな調節機構が発現している(図1)¹)。これらの光合成器官の多くは、脂質分子が作り出す細胞膜内在性の疎水性膜タンパク質であり、配位結合や疎水性相互作用などの非共有結合に基づく色素類の見事な固定化と配置が成されている²)。光合成諸反応の実現には、これらの色素類の「精密な分子構造」とその配置が必須であり、更に色素類はタンパク質による変調を受けることで多様な機能発現を可能としている。本稿では、光合成細菌が生産する光収獲性クロロフィル色素(脱金属体であ

るフェオフィチン色素は取り扱わない)の17位上のエステル鎖の微細構造(色素に特徴的である発色団に影響しない疎水性部位)に焦点を絞り、著者らの最近の研究結果を中心に、その構造と機能について紹介する。

2. (バクテリア)クロロフィルの構造とエステル鎖の多様性

典型的なクロロフィル色素の分子構造を図2に示す。酸素発生型生物に特徴的に見られるクロロフィル(Chl)-a (図2(a))、酸素非発生型生物で見られるバクテリオクロロフィル(BChl)-a (図2(b))を例としてあげた。これらの色素の特徴的なテトラピロール発色団のπ電子系は太線でマークした(図2(c)にエーテル中での電子吸収スペクトルを示す)。本稿で注目する17位上の長鎖エステル基(図中Rで示した)は、π共役系と直接結合していない。そのため、エステル鎖の種類・構造による色素の光特性(電子吸収・蛍光発光スペクトルなど)への影響はほとんど見られず、これまであまり注目されてこなかった。

17位上の長鎖エステル基は、クロロフィル色素の分子量比で約1/3~1/4を占める非常に巨大な置換基であり、生物種により様々な構造がこれまでに確認・報告されている³)。炭素数が20(C20)のイソプレノイド型フィチル基が結合しているプロピオネート型エステル(17-CH₂-CH₂-COOR; R = phytyl etc.)が一般的である。緑色硫黄細菌(例えばBChl-c)やヘリオバクテリア(BChl-g)では、C15のファルネシル基が結合している。緑色非硫黄細菌(BChl-c)では、単純な直鎖型ステアリル基(C18)などが結合したものも存在する。また、褐

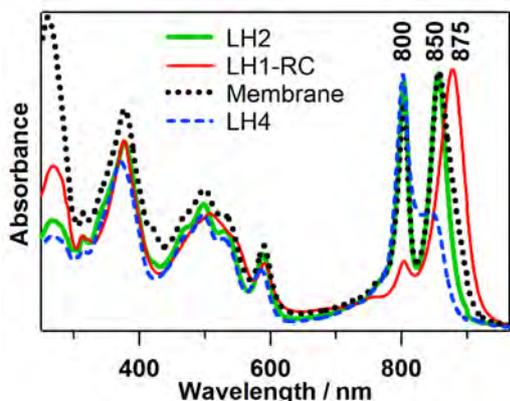


図1 *Rhodospseudomonas* sp. Rits 由来の色素タンパク質複合体の電子吸収スペクトル (Tris-Buffer中)

[‡] 解説特集「光合成研究 —化学からのアプローチ—

* 連絡先 E-mail: tmizo@se.ritsumei.ac.jp

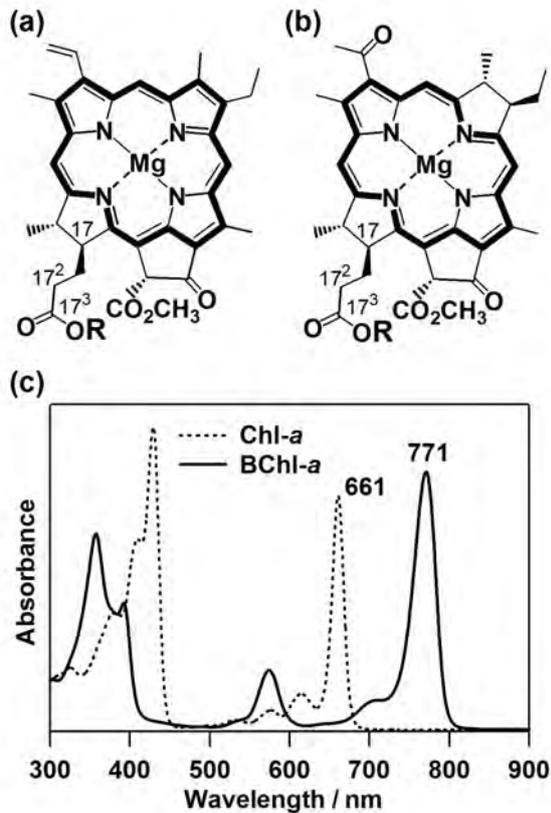


図2 (a) Chl-*a* および (b) BChl-*a* の分子構造と (c) その電子吸収スペクトル (ジエチルエーテル中)

藻や珪藻類に特有の大部分のChl-*c*では、長鎖エステル基が欠落したアクリル酸残基を持つ(後述)。

長鎖エステル基は、クロロフィル生合成の最終段階でエステル化されて導入され、成熟型のクロロフィル色素となる⁴⁾。光合成タンパクへの固定化に「アンカー」として機能しているものと考えられ、その結果として見事な光捕集アンテナや反応中心が構築される。図3に紅色細菌の周辺アンテナ色素タンパク質複合体(LH2)のサブユニット構造を示す⁵⁾。ここでは、BChl-*a*のphytyl(Phy)鎖が、 α - β -ペプチドに巻きつくように配向し、BChl-*a*分子を見事に固定化している様子が見て取れる。しかし、これらの色素タンパク質複合体のX線結晶構造解析では、エステル鎖の構造はその電子密度が低くて案外見えていないことが多い点に注意する必要がある。

*Rhodospirillum (Rsp.) rubrum*は、Phy鎖の代わりにゲラニルゲラニル(GG)鎖が結合したBChl-*a*_{GG}をアンテナ色素として持つ(反応中心のBPhe-*a*はPhyエステル体であるが)。興味深いことにこの種では、周辺アンテナ(=LH2)は合成されない。分子生物学的研究からLH2-ペプチドとBChl-*a*_{GG}の組み合わせは、複合体を安定に

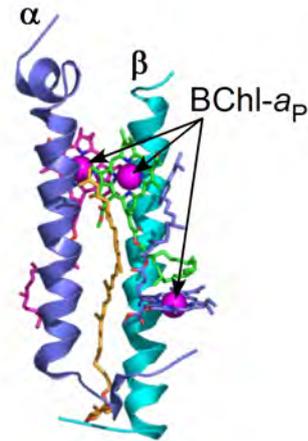


図3 LH2のサブユニット構造 (PDB-ID = 1FKWよりPymolで作図)

形成できないことが報告されている⁶⁾。エステル鎖の剛直性、フレキシビリティが光合成器官の形成に影響を及ぼすことが予見される。そこで、エステル鎖の生合成時に見られる微細構造が異なる前駆体に注目することとした。

3. エステル鎖の生合成と命名法

3-1. エステル鎖の生合成 (研究がよく進んでいるChl-*a*を例にとり)

図4(a)に提案されているエステル鎖の生合成経路を示す⁴⁾。暗所で生育させた黄化葉に光照射した際に起こる緑化過程 (greening) で、生合成の前駆体であるChl-*a*_{GG}、Chl-*a*_{DHGG}、Chl-*a*_{THGG}の蓄積が見られる⁷⁾。暗所で生育させた黄化葉中には、クロロフィルも光化学系も存在しない。ここでは、クロロフィルの前駆体であるプロトクロロフィリド(PChlide)-*a*だけが存在している。これに光照射すると、PChlide-*a*がクロロフィリド(Chlide)-*a*に酵素的に変換される⁸⁾。その後、Chlide-*a*の17-プロピオン酸残基はGG-diphosphateとクロロフィルシンターゼによりエステル化され、GG鎖中の3個の二重結合が位置選択的な還元を受けることで(触媒酵素ChlP)、順次、ジヒドロゲラニルゲラニル(DHGG)、テトラヒドロゲラニルゲラニル(THGG)、Phy鎖へと導かれる⁹⁾。この逆パターンの反応様式、つまり位置選択的な還元後にChlide-*a*へのエステル化が起こるのか、また両方の反応様式が競争的に起こるのかはまだ不明である。酸素非発生源生物で見られるBChl-*a*やBChl-*b*の場合でも、上記のChl-*a*の生合成系と同様な経路をたどると考えられてきた^{4,10)}。しか

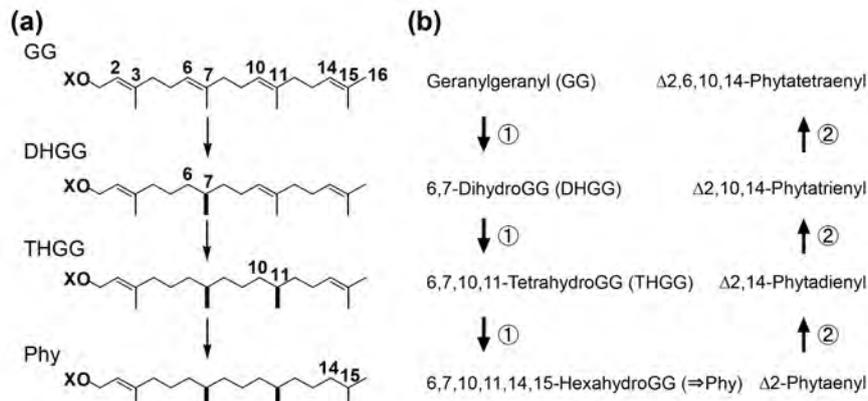


図4 (a) 提案されているエステル鎖の生合成経路と(b) その命名法。図中XはdiphosphateまたはChlide-a

し、生合成前駆体であるBChl-*a*_{DHGG}、BChl-*a*_{THGG}の分子構造はごく最近まで同定されていなかった。

3-2. エステル鎖の命名法

エステル鎖の生合成前駆体には2種類の命名法が考えられる(図4(b))。その①: 4個の二重結合を持つGGを基準とした場合、一つの二重結合が還元されるとDHGG、更に一つ還元されるとTHGGとなる。また、還元を受ける位置を、図4(a)のGGに示すナンバリングに従い表記する(例えば6,7-DihydroGG)。その②: 逆にphytyl(=phytaenyl)を基準とすると、二つの水素原子が脱水素されるとphytadienyl、更に二個ずつ順次脱水素されるとphytatrienyl、phytatetraenyl(=GG)となる。脱水素された結果生じる二重結合の位置を、図4(a)のGGに示すナンバリングに従い表記する(例えば Δ 2,10,14-phytatrienyl)。本稿では、前者①の命名法を用いることとし、一般的に広く使われているphytyl(Phy)基は、hexahydrogeranylgeranyl基の代わりに用いることとした。

4. 紅色光合成細菌における17位エステル鎖

4-1. BChl-*a*

Rhodospseudomonas sp. Rits 及び *Rhodobacter* (*Rba.*) *sphaeroides* 2.4.1の逆相HPLCクロマトグラムを図5に示す。紅色細菌における前駆体(BChl-*a*_{GG}、BChl-*a*_{DHGG}、BChl-*a*_{THGG})の蓄積は、Phyエステル体に対するマイナー成分としてShioiらをはじめ古くから知られていた¹⁰⁾。先行していたChl-*a*_X(X=GG, DHGG, THGG)の研究結果を受け、これらの前駆体のエステル鎖の構造もChl-*a*_Xのもの(図4)と同じであると考えられ、その構造を決定しようとする試みは行われてこなかった。こ

れは、構造解析でき得るだけの試料調製の困難さによっていた。近年、著者らは、*Rhodospseudomonas* (*Rps.*) *palustris*種の一部に、これらの前駆体が50%近く蓄積する場合があることを見出した¹¹⁾。興味深いことにこれらの種は、培養時の光照度に応答して周辺アンテナの構造そのものを改変するものでもあった。

4-2. 構造解析

エステル鎖の構造解析は質量分析で容易に行える。エステル鎖が解離したフラグメントピークの利用も有効である。例えば、BChl-*a*_{DHGG}(Mw=906.5)とBChl-*a*_{GG}(Mw=904.5)では、分子量の違いが2.0Daあるが、これらには共通のバクテリオクロロフィリド(BChlide)-*a*

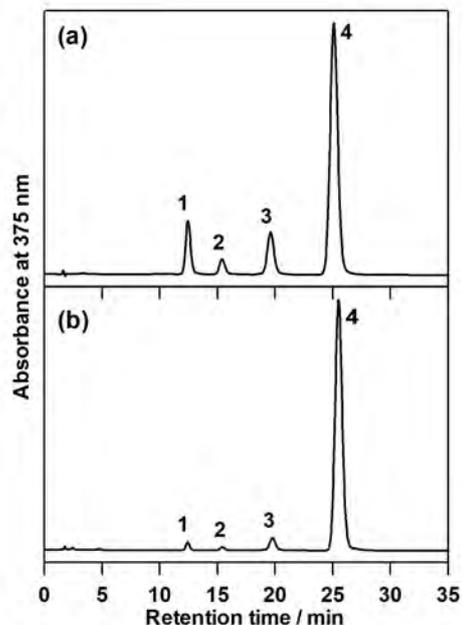


図5 (a) *Rhodospseudomonas* sp. Rits及び(b) *Rba. sphaeroides* 2.4.1のHPLCクロマトグラム

ピーク1~4は溶出順にBChl-*a*_{GG}、BChl-*a*_{DHGG}、BChl-*a*_{THGG}、BChl-*a*_p

のフラグメントピーク(632.3)が観測され、2.0Daの分子量の違いがエステル鎖に由来することが確認できる。しかし、質量分析からは、エステル鎖中に存在する二重結合の位置を一義的に確定することは極めて困難である(過去になされた構造解析は、エステル鎖を加水分解後、GC-MSによるフラグメンテーションおよび標品との比較によるものがほとんどであった¹²⁾。

エステル鎖中の二重結合の位置決定までの構造解析はNMRに頼らざるを得ない。¹H-NMR (100 μg以下程度の試料でも十分に解析可能) だけでは、二重結合の位置を同定するのは困難であり(構造に依存する)、¹³C-NMR (3-5 mg程度の試料が必要)を組み合わせることが必須となる。この解析の際には、エステル鎖の両末端(構造が大きく異なる)、枝分かれメチル基、オレフィン部が解析の重要な足がかりとなる。この手法により、緑色硫黄細菌中の一次電子受容体であるChl-*a*_{THGG}¹³⁾や*Acaryochloris marina*の主要クロロフィルであるChl-*d*_P¹⁴⁾などが決定されてきた。著者らも同様に、図5に示した*Rhodospseudomonas* sp. Ritsから十分な量のBChl-*a*_{DHGG}(ピーク2)およびBChl-*a*_{THGG}(ピーク3)を単離・精製し、構造を決定することに成功した¹¹⁾。決定された構造は、図4で予期されたChl-*a*_Xのエステル鎖と同一であり、酸素発生型生物(Chl-*a*)と酸素非発

生型生物(BChl-*a*)の両者において、エステル鎖の生合成経路が同一であることがうかがわれた。

4-3. BChl-*b*

Blastochloris (*Blc.*) *viridis* DSM133及び*Halorhodospira* (*Hlr.*) *halochloris* DSM1059の逆相HPLCクロマトグラムを図6に示す。BChl-*b*でも特殊なエステル鎖の存在が報告され、化学誘導法によるエステル鎖の加水分解後のGC-MS解析に基づきΔ2,10-型のTHGG鎖と帰属されていた¹⁵⁾。NMRを用いた著者らの構造解析でも、確かにΔ2,10-型のTHGG鎖であることが確認された¹⁶⁾。主成分のBChl-*b*_{THGG}(ピーク3)に加え、BChl-*b*_{GG}(ピーク1)およびBChl-*b*_{DHGG}(ピーク2)の蓄積が確認されたが(Phyエステル体は検出されなかった)、このBChl-*b*_{DHGG}の構造は存在比が小さいので未確定である。しかし通常は、*Blc. viridis*をはじめBChl-*b*_Pを主要色素として蓄積する株では、前駆体の蓄積はほとんど見られなかった(図6(b)挿入図)。

4-4. HPLCを用いた17位エステル鎖の精密同定

エステル鎖中の二重結合の位置のみが異なるクロロフィルのHPLCによる精密分析の結果を図7に、3-Ac-Chl-*a*_{THGG}(Δ2,14型)と3-Ac-Chl-*a*_{THGG}(Δ2,10型)のco-chromatographyを例に示す。二つの二重結合の位置のみが異なるTHGGエステル体は、以下のように調製した。*Rhodospseudomonas* sp. Ritsより単離したBChl-*a*_{THGG}のDDQ酸化から3-Ac-Chl-*a*_{THGG}(Δ2,14型)を、*Hlr. Halochloris* 由来 BChl-*b*_{THGG}の異性化から3-Ac-Chl-*a*_{THGG}(Δ2,10型)を合成した。Co-chromatography分析の

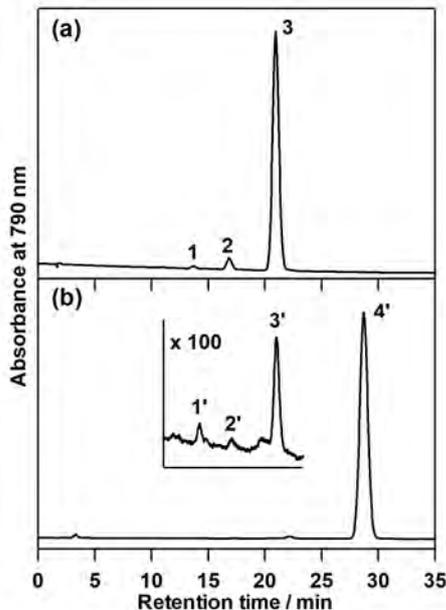


図6 (a) *Hlr. halochloris* DSM1059 および(b) *Blc. viridis* DSM133のHPLCクロマトグラム

ピーク1(1')はBChl-*b*_{GG}、ピーク2(2')はBChl-*b*_{DHGG}、ピーク3(3')はBChl-*b*_{THGG}、ピーク4(4')はBChl-*b*_P。

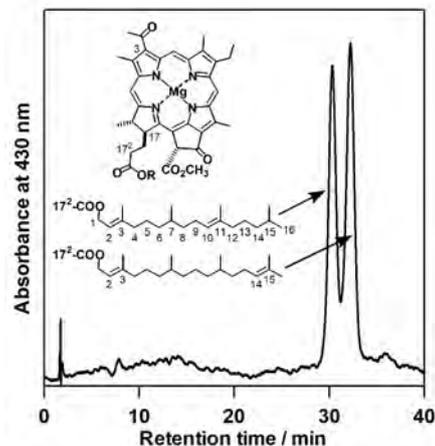


図7 異なるエステル鎖を持つクロロフィルのco-chromatography(3-Ac-Chl-*a*_{THGG})

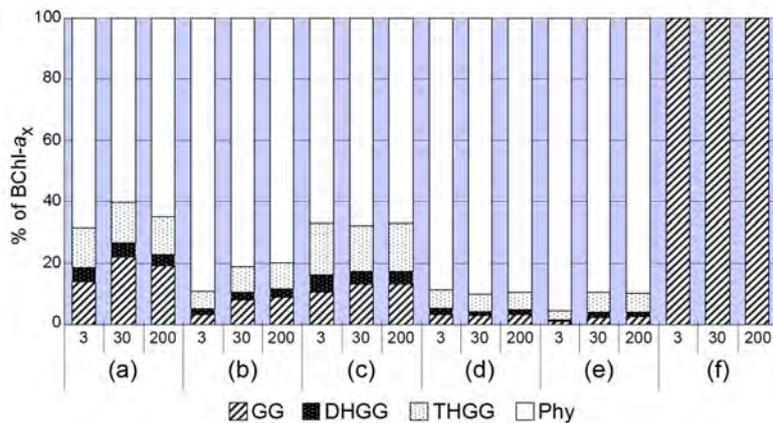


図8 紅色細菌における前駆体蓄積量の光照度依存性 (3, 30, 200 μE·sec⁻¹·m⁻²) (a) *Rhodospseudomonas* sp. Rits, (b) *Rps. palustris* CGA009, (c) *Rps. palustris* Morita, (d) *Rps. palustris* DSM123, (e) *Rba. sphaeroides* 2.4.1, (f) *Rsp. rubrum* S1.

結果、エステル鎖における微細構造の違いが(10位か14位のどちらかに二重結合があるのかだけで)、HPLC分析により明瞭に識別できることが確認された。

5. 紅色光合成細菌におけるエステル鎖生合成前駆体の組成と分布

5-1. 照度変化に伴うBChl-aXの組成変化

*Rps. palustris*の一種では、培養時の光照度に応答し周辺アンテナ器官の構造を変化させる(図1: LH2→LH4など)。そこで*Rps. palustris*種を中心に、培養時の光照度(3, 30, 200 μE·sec⁻¹·m⁻²)によるBChl-aX生合成前駆体の蓄積状況を詳細に検証した。図8にその結果を示す。培養時の光照度の増加とともに前駆体蓄積量の増加傾向が確認された¹⁷⁾。これは、高照度下にさらされた生物の光障害ストレスによるものと考えられるが詳細は不明である。

5-2. 色素タンパク質複合体におけるBChl-aXの組成

種々の光照度で生育した*Rps. palustris*株より各光合成器官を単離・精製し、その前駆体組成を解析した。その結果、前駆体は周辺アンテナ(LH2/LH4)よりもコアアンテナ(LH1-RC)に多く蓄積することが確認された(図9)。Phyエステル体が周辺アンテナに蓄積しやすいとも言える(図3参照)。この結果は、*Rsp. rubrum*におけるアンテナ色素としてのBChl-a_{GG}の蓄積と周辺アンテナを形成しない事実とも矛盾しないと思われる。エステル鎖の剛直性が前駆体の光合成器官における局在化を引き起こしている可能性が考えられた。同時に、前駆体は光合成系で実際に機能している(代謝産

物ではなく)クロロフィル色素であることも初めて確認された。

6. 長鎖エステル鎖を持たない特異なクロロフィル(Chl-c類)

17位上に長鎖エステル基を持たないクロロフィル類も自然界に存在する¹⁸⁾。図10(a)に褐藻や珪藻類に含まれるChl-cの分子構造を示す。Chl-cは、ポルフィリン骨格を有し、17位に遊離のアクリル酸残基(17-CH=CH-COOH)が結合しているのが特徴である(一般的なクロロフィル類はプロピオネート型エステル: 図

2)。また、周辺側鎖の種類に従いChl-c₁(R⁷=CH₃, R⁸=CH₂CH₃)、Chl-c₂(R⁷=CH₃, R⁸=CHCH₂)、Chl-c₃(R⁷=CO₂CH₃, R⁸=CHCH₂)に大別される。Chl-c₁とChl-c₂は、すべてのクロロフィルの生合成前駆体であるPChlide-aとその8-vinyl類縁体(8-vinyl-PChlide-a)(図10(b))の関係に対応するため、そのモデル色素とみなすこともできる。一部のChl-cでは、長鎖エステルが結合したのも確認されている(*Emiliania huxleyi*におけるChl-c₂-MGDG)¹⁹⁾。こういったChl-c類縁体を含める

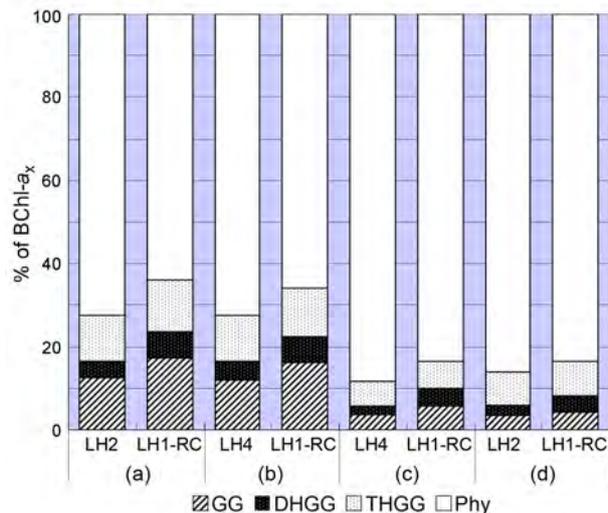


図9 *Rps. palustris*種由来色素タンパク質複合体における前駆体蓄積量 (a) 通常光 (30 μE·sec⁻¹·m⁻²) 培養の *Rhodospseudomonas* sp. Rits, (b) 低照度 (3 μE·sec⁻¹·m⁻²) 培養の *Rhodospseudomonas* sp. Rits, (c) 低照度 (3 μE·sec⁻¹·m⁻²) 培養の *Rps. palustris* CGA009, (d) 低照度 (3 μE·sec⁻¹·m⁻²) 培養の *Rps. palustris* DSM123.

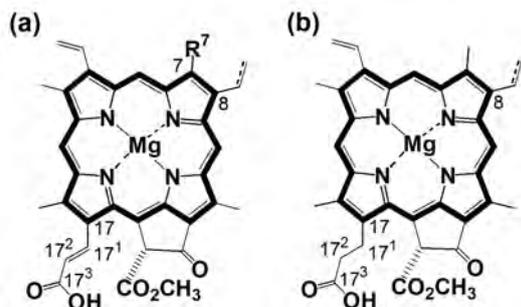


図10 (a) Chl-c と (b) PChlide-a の分子構造

とこれまでに約11種類が報告されている。Chl-c 類は、フコキサンチン-クロロフィル*a/c*タンパク質複合体 (FCP) に代表されるように、アンテナ系色素として機能していると考えられている (主要クロロフィルはChl-*a_P*)。Chl-*c*含有アンテナ器官については、その色素組成 (FCPではフコキサンチン:Chl-*a*:Chl-*c*=4:4:1と考えられている)、生化学的純度(会合度)、三次元構造など未解明な点が多く残されている²⁰⁾。

クロロフィル類の特徴的な性質である大きな蛍光発光量子収率へのエステル鎖の影響を検証した(表1)。長鎖エステルを持たないChl-*c*を例にとり、その17⁴位にPhy基をエステル化させたモデル色素を合成した(Chl-*c*-Phy)。その結果、エステル化により蛍光発光量子収率は大幅に減少することが確認された(一方エステル化によって色素に特徴的な発色団の吸収にはほとんど影響を認められなかった²¹⁾。

7. 緑色光合成細菌の17位エステル鎖

7-1. エステル鎖長の異なるBChl-*c*の*in-vivo*合成とその自己集積への影響

光合成タンパクが器官形成に大きく関与しない緑色細菌の膜外アンテナ系クロロゾームを対象に、エステル鎖の疎水性相互作用に基づく構造安定化への寄与を検証した。*Chlorobium tepidum* 株は光収獲性クロロ

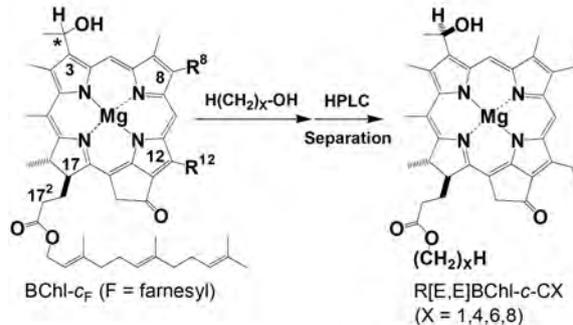


図11 エステル鎖長の異なるBChl-*c*-CX (X=1, 4, 6, 8)の*in-vivo*合成 (R8、R12にはメチル化度の異なる同族体が存在)

フィルとしてBChl-*c_F*を有す(図11(左))。17⁴位にC15の炭化水素であるfarnesyl基が主成分として結合している。培養時に、適当なアルコールの懸濁液を培地に添加すると、一部のBChlide-*c*は添加アルコールをその17⁴位にエステル化させる²²⁾。これにより、C1~C8までの鎖長の異なる直鎖状のエステル鎖を有すBChl-*c*誘導体(BChl-*c*-CX)を合成し、擬似クロロゾームとしての自己会合体をTriton X-100含有水溶液中(C9~10の炭化水素鎖を有すミセル構造体)で調製した²³⁾。時間経過とともに、エステル鎖の短いBChl-*c*-C1とBChl-*c*-C4は析出が顕著に見られた(図12)。これに対し、C8以上の炭化水素鎖を有すものは数週間以上安定に水溶液中に分散していることが確認された。これらの結果から、ミセル構造体中に内包されたBChl-*c*分子は、17位上のエステル鎖を外側に向けた(クロリン部位は内側)いわゆる逆ミセル型自己会合体構造³⁾を形成することで、Triton X-100 分子の炭化水素鎖との疎水性相互作用も加わり、安定化されたものと考えられた。

8. おわりに

今回取り上げた光収獲性クロロフィル類の17位上に結合した長鎖エステルには、多彩で多様な構造と機能

表1 Chls-*c*およびそのフィチルエステル誘導体 (Chls-*c*-Phy) の吸収、蛍光発光特性(テトラヒドロフラン中)

Compound	$\lambda_{\text{abs}} / \text{nm}$		$\lambda_{\text{em}}^a / \text{nm}$	Quantum yield ^a / %
	Soret	Q		
Chl- <i>c</i> ₁	454.6	585.0	632.8	27
Chl- <i>c</i> ₂	458.4	588.0	634.2	23
Chl- <i>c</i> ₁ -Phy	456.8	585.6	633.2	8
Chl- <i>c</i> ₂ -Phy	460.4	588.8	634.8	7

^a Soret帯で励起。

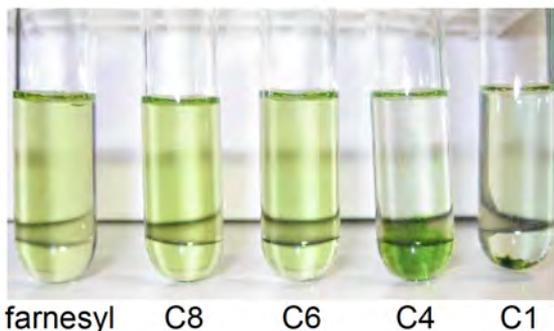


図12 BChl-*c*-CX(X=1, 4, 6, 8)と BChl-*c_F* のミセル中での自己会合体の安定性

が見られ、いくつかの細菌類ではその構造は培養時の光強度に応答性を示すことが確認された。種々の光強度下で生育した紅色細菌より単離・精製したアンテナ色素タンパク質複合体中に、構造の異なる長鎖エステル体の結合が確認され、これらのエステル体が機能性クロロフィル色素であることも確認された。また、エステル鎖の構造的な多様性から、その生合成経路も従来考えられてきたような画一的なものではなく、種により独自に進化、発展させている可能性が予見された。HPLCを用いた精密な構造解析法も確立しつつある。今後、様々な光合成生物についての網羅的なデータの蓄積を行うことで「環境変化に自発的に適応するアンテナ系の自然戦略」の一端が解明できるのではと期待する。

謝辞

本稿で紹介した我々の研究の遂行に日々弛まぬ努力を共有して下さっている共同研究者の方々にこの場を借りてお礼申し上げる：原田二郎博士(久留米大学)、大岡宏造博士(大阪大学)、伊佐治恵・木村ゆうき・渡部和幸・吉田沙耶佳・永井千尋各君(立命館大学)。

Received November 3, 2009, Accepted November 27, 2009,
Published December 31, 2009

参考文献

1. Hayashi, H., Miyao, M., and Morita, S. (1982) Absorption and fluorescence spectra of light-harvesting bacteriochlorophyll-protein complexes from *Rhodospseudomonas palustris* in near-infrared region, *J. Bacteriol.* 91, 1017-1027.

2. Cogdell, R. J., Gall, A., and Köhler, J. (2006) The architecture and function of the light-harvesting apparatus of purple bacteria: from single molecules to *in vivo* membranes, *Quart. Rev. Biophys.* 39, 227-324.
3. Tamiaki, H., Shibata, R., and Mizoguchi, T. (2007) The 17-propionate function of (bacterio)chlorophylls: biological implication of their long esterifying chains in photosynthetic systems, *Photochem. Photobiol.* 83, 152-162.
4. Rüdiger, W. (2003) The last steps of chlorophyll biosynthesis, in *The Porphyrin Handbook* (Kadish, K. M., Smith, K. M., and Guillard, R., Eds.), vol. 13, pp. 71-108, Academic Press, San Diego, CA.
5. McDermott, G., Prince, S. M., Freer, A. A., Nawthornthwaite-Lawless, A. M., Papiz, M. Z., Cogdell, R. J., and Isaacs, N. W. (1995) Crystal structure of an integral membrane light-harvesting complex from photosynthetic bacteria, *Nature* 374, 517-521.
6. Addelee, H. A., and Hunter, C. N. (2002) *Rhodospirillum rubrum* possesses a variant of the *bchP* gene, encoding geranylgeranyl-bacteriopheophytin reductase, *J. Bacteriol.* 184, 1578-1586.
7. Hooper, J. K., White, R. A., Marks, D. B., and Gabriel, J. L. (1994) Biogenesis of thylakoid membranes with emphasis on the process in *Chlamydomonas*, *Photosynth. Res.* 39, 15-31.
8. Masuda, T., and Fujita, Y. (2008) Regulation and evolution of chlorophyll metabolism, *Photochem. Photobiol. Sci.* 7, 1131-1149.
9. Addelee, H. A., Gibson, C. D., Jensen, P. E., and Hunter, C. N. (1996) Cloning, sequencing and functional assignment of the chlorophyll biosynthesis gene, *chlP*, of *Synechocystis* sp. PCC6803, *FEBS Lett.* 389, 126-130.
10. Shioi, Y., and Sasa, T. (1983) Terminal steps of bacteriochlorophyll *a* phytol formation in purple photosynthetic bacteria, *J. Bacteriol.* 158, 340-343.
11. Mizoguchi, T., Harada, J., and Tamiaki, H. (2006) Structural determination of dihydro- and tetrahydrogeranylgeranyl groups at the 17-propionate of bacteriochlorophylls-*a*, *FEBS Lett.* 580, 6644-6648.
12. Schoch, S., and Schäfer, W. (1978) Tetrahydrogeranylgeraniol, a precursor of phytol in the biosynthesis of chlorophyll *a* - localization of the double bonds, *Z. Naturforsch.* 33c, 408-412.
13. Kobayashi, M., Oh-oka, H., Akutsu, S., Akiyama, M., Tominaga, K., Kise, H., Nishida, F., Watanabe, T., Amesz, J., Koizumi, M., Ishida, N., and Kano, H. (2000) The primary electron acceptor of green sulfur bacteria, bacteriochlorophyll 663, is chlorophyll *a* esterified with Δ 2,6-phytadienol, *Photosynth. Res.* 63, 269-280.
14. Miyashita, H., Adachi, K., Kurano, N., Ikemoto, H., Chihara, M., and Miyachi, S. (1997) Pigment composition of a novel oxygenic photosynthetic

- prokaryote containing chlorophyll *d* as the major chlorophyll, *Plant Cell Physiol.* 38, 274-281.
15. Steiner, R., Schäfer, W., Blos, I., Wieschhoff, H., and Scheer, H. (1981) Δ 2,10-Phytadienol as esterifying alcohol of bacteriochlorophyll *b* from *Ectothiorhodospira halochloris*, *Z. Naturforsch.* 36c, 417-420.
 16. Mizoguchi, T., Isaji, M., Harada, J., Watabe, K., and Tamiaki, H. (2009) Structural determination of the Δ 2,10-phytadienyl substituent in the 17-propionate of bacteriochlorophyll-*b* from *Halorhodospira halochloris*, *J. Porphyrins and Phthalocyanines* 13, 41-50.
 17. Harada, J., Mizoguchi, T., Yoshida, S., Isaji, M., Ohoka, H., and Tamiaki, H. (2008) Composition and localization of bacteriochlorophyll *a* intermediates in the purple photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas* sp. Rits, *Photosynth. Res.* 95, 213-221.
 18. Zapata, M., Garrido, J. L., and Jeffery, S. W. (2006) Chlorophyll *c* pigments: current status, in *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications* (Grimm, B., Porra, R. J., Rüdiger, W., and Scheer, H., Eds.), pp. 39-53, Springer, The Netherlands.
 19. Garrido, J. L., Otero, J., Maestro, M. A., and Zapata, M. (2000) The main nonpolar chlorophyll *c* from *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) is a chlorophyll *c*₂-monogalactosyldiacylglyceride ester: a mass spectrometry study, *J. Phycol.* 36, 497-505.
 20. Büchel, C. (2003) Fucoxanthin-chlorophyll proteins in diatoms: 18 and 19 kDa subunits assemble into different oligomeric states, *Biochemistry* 42, 13027-13034.
 21. Mizoguchi, T., Nagai, C., Kunieda, M., Kimura, Y., Okamura, A., and Tamiaki, H. (2009) Stereochemical determination of the unique acrylate moiety at the 17-position in chlorophylls-*c* from a diatom *Chaetoseros calcitrans* and its effect upon electronic absorption properties, *Org. Biomol. Chem.* 7, 2120-2126.
 22. Larsen, K. L., Miller, M., and Cox, R. P. (1995) Incorporation of exogenous long-chain alcohols into bacteriochlorophyll *c* homologs by *Chloroflexus aurantiacus*, *Arch. Microbiol.* 163, 119-123.
 23. Mizoguchi, T., and Tamiaki, H. (2007) The effect of esterifying chains at the 17-propionate of bacteriochlorophylls-*c* on their self-assembly, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 80, 2196-2202.

The Structure and Function of Long Esterifying Chains on (Bacterio)chlorophylls in Photosynthetic Antenna Systems

Tadashi Mizoguchi^{1,*} and Hitoshi Tamiaki²

¹Department of Applied Chemistry and ²Department of Pharmacy, Institute of Science and Engineering, Ritsumeikan University

解説

植物の光合成に学ぶ色素増感太陽電池の研究開発[‡]

東京大学先端科学技術研究センター

瀬川 浩司^{*}

1. はじめに

炭酸ガスの排出抑制に向けて、再生可能エネルギー（太陽光、風力、地熱、水力など）の利用拡大が求められているが、風力、地熱、水力などを利用する発電所は立地条件に制約があり、今後大きく導入が進むとは考えにくい。これに対し、植物と同様に太陽光をエネルギー源とする太陽電池は設置が容易であり、今年から購入補助金が復活し余剰電力の買取制度もスタートしたことで、一般家庭への普及が進み2008年度末の日本国内の太陽電池設置量（標準測定条件 100 W/m², 25°C, AM 1.5の出力ワット数W_pで表す）は、約2 GW_pに達した。ただし、それでもまだ国内電力消費量の1%も賄うことができず、今後さらに太陽電池の導入を進める必要がある。自民党政権時代の太陽光発電導入目標は、2020年に現状の20倍、2030年に40倍であったが、鳩山政権が掲げた温室効果ガス1990年比-25%を達成するには、少なくとも2020年までに太陽光発電を現状の55倍導入する必要があるとの試算もある。これを達成するためには、太陽電池の低コスト化と大量生産が特に重要である。ところが現在の主な太陽電池の原料である高純度シリコンはとても高価なう

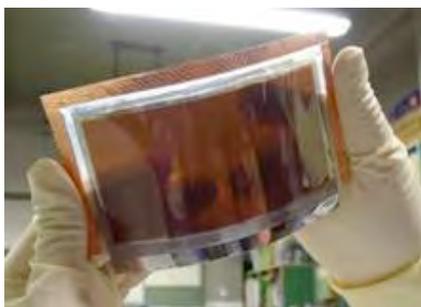


図1 プラスチックフィルム上に作成したフレキシブルな色素増感太陽電池 (DSSC)

え、シリコンを節約する薄膜太陽電池の製造プロセスも複雑なため、なかなか太陽電池のコストは下がらない。また、高純度シリコンの原料も地球上で偏在しており、日本の場合はその安定確保にも問題を抱えている。これらの問題を解決できる次世代太陽電池として、シリコンを使わずに、光合成初期過程と類似する色素の光誘起電子移動を利用する色素増感太陽電池 (Dye-Sensitized Solar Cell, DSSC、図1) が注目を集めている。本稿ではこのDSSCの研究開発の現状について光合成との関連から述べることにする。

2. 色素増感太陽電池 (DSSC) とは

DSSCは、1960年代から研究されてきた湿式太陽電池が原型となっている¹⁾。湿式太陽電池は、半導体のバンド間励起によって吸収した光エネルギーを使って電気化学反応を起こすもので、シリコンを使ったp n接合太陽電池とは全く異なる発電機構を持つ。初期の湿式太陽電池に使われたZnO、TiO₂などのワイドバンドギャップ半導体は、可視光を吸収せず紫外光しか利用できないが、この半導体表面に色素を吸着させ可視光増感作用により可視光を利用できるようにしたものがDSSCである²⁾。ただし、初期のDSSCは大量の電解液を使用しており、「光電気化学セル」と言ったほうが正しく、実用的太陽電池とは言えなかった。ところが、1990年代に入り、スイス連邦工科大学のグレッツェルらが実用的な太陽電池としての「色素増感太陽電池」を発表して状況は一変した。既に1970年代から多孔質半導体電極を用いると光エネルギー変換効率が向上することは知られていたが³⁾、グレッツェルらのTiO₂多孔質薄膜を用いたDSSCによる8%を超える光エネルギー変換効率はインパクトがあった⁴⁾。その後、

[‡] 解説特集「光合成研究 —化学からのアプローチ—」

^{*} 連絡先 E-mail: csegawa@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

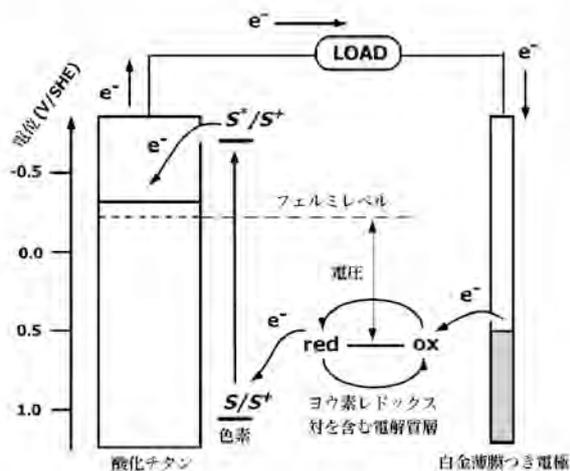


図2 色素増感太陽電池 (DSSC) の発電機構

色素の改良や散乱層の導入などにより現在では12%を超える効率が報告されている⁵⁾。これらの研究の波及効果は大きく、以来TiO₂多孔質膜電極を用いたDSSCは「グレッツェルセル」とも呼ばれ、シリコン系太陽電池に替わる低コスト次世代太陽電池として大変期待されるようになった。国内では、大学や国立研究所のグループに加え、多数の企業が先進的な研究を展開している。現在、DSSCは、エネルギー変換効率向上と耐久性向上、対極側にCuIを用いたような全固体型⁶⁾や電解液をゲル化させたタイプ⁷⁾など、応用面を重視した研究が数多くなされている。また、ITO-PETフィルム上にTiO₂を焼結させたフィルム型DSSC (図1)の研究が行われている⁸⁾。さらに、大型のモジュールも試作されている。グレッツェルセルは、以前の湿式太陽電池と比べると高い効率を持ち、用途によっては十分な耐久性もある。また、カラフルにしたりフィルムにしたりできるという形状自由度の高さから、従来の太陽電池にはできない機能を付与することができる⁹⁾。

3. DSSCの発電機構と光エネルギー変換効率

図2にグレッツェルセルの構造を示した。グレッツェルセルは、色素が吸着した酸化チタン、白金薄膜付き対極、ヨウ素レドックス対を含む有機溶媒からなる電解質層から構成される。光吸収した色素が光誘起電子移動を起こし、電子が酸化チタンの伝導帯に注入される。この電子は酸化チタン中を透明電極へ拡散し、外部回路で仕事をした後、対極でI₃⁻を3I⁻に還元する。また、酸化チタンに電子を放出し酸化さ

れた色素は、I⁻により還元される。DSSCは、この一連の光化学反応により発電するのである。一般にDSSCでは、光を吸収し、電荷を生成する部分 (色素) と電荷を輸送する部分 (酸化チタンと電解質層) が分離しており、電荷の生成・輸送を同一素材のシリコンが担うシリコン太陽電池と大きく異なる。

理論上、DSSCの光エネルギー変換効率をどこまで上げられるのかは開発の指針を立てる上で大事なポイントである。一般に、半導体を利用した太陽電池はその吸収端エネルギー (バンドギャップ) と太陽エネルギーのスペクトル分布の関係から一義的に最高効率が決まる。例えば、1.1eVのバンドギャップを持つ結晶シリコンの理論最高効率は約30%である。色素増感型においてもこの制約は当てはまり、Ru錯体色素を例にとるとLUMO-HOMO間のエネルギー準位が約1.5V程度であるため、理論最高効率は約31%となる。次に、デバイス自身の光吸収能力が重要となる。太陽電池の評価基準である1 sun (1000 W/m²) はかなり強い光であるが、これを10~20μm程度の酸化チタン層で全て吸収して電気エネルギーに変換するというのは並大抵の作業ではない。効率向上のためには色素と電解液に合わせた酸化チタン電極の設計が必要であり、その因子としては (1) 分子レベルの表面粗さ (ラフネスファクター)、(2) 光透明性・光散乱性、および (3) 酸化チタン粒子間の電子移動特性が挙げられる。特に最後に挙げた (3) の項目を考慮すると、酸化チタン電極は薄いほうがより良いということになる。その場合にはモル吸光係数の大きい色素の開発によってデバイスの光吸収を改善し、効率を向上させる工夫が必要になる。このあたりは、植物や光合成細菌の色素系が参考になる。例えば、クロロフィルが、4回対象軸を持つテトラフェニルポルフィリンよりS1への遷移確率が高くモル吸光係数も大きいのは、分子の対称性を落としていることによる。また、クロロゾームの色素会合体や反応中心のスペシャルペアでは会合体形成により見かけの吸光係数を稼いだりしている。一方、開放起電圧の値は酸化チタンのフェルミ準位と電解液中のヨウ素の酸化還元準位、即ち使用する材料の組み合わせによって決まるはずだが、現実には色素を変化させることでも電圧は変化する。即ち色素の種類や吸着状態により出来るだけ逆電子移動を抑え、なおかつ酸化チタンの焼結状態や基板との接合界面を如何に理想的にするかが勝負となる。

4. DSSCに用いる色素分子の開発

現状で高い効率を示す増感色素として用いられるものは、N3、N719、ブラッグダイなどいずれもRuのポリピリジン錯体である^{4, 10}。しかしながら、これらの色素分子のモル吸光係数はさほど大きくなく、また近赤外光を吸収できないため、光エネルギー変換効率は最高でも12%程度にとどまっている。このため、新たな色素の開発が進んでいる。まず、色素に求められる性質として必要なことは、励起状態における分極である。Ru錯体の場合も金属-配位子間の電荷移動(MLCT)遷移によって大きく分極している。(1)~(6)は、ドナー性部位とアクセプター性部位によるpush-pull効果が働き、高い変換効率を示す。(1)、(2)、(3)の変換効率は、それぞれ5.5%、5.8%、5.1%と報告されている¹⁰。

メロシアンインも励起状態で大きく分極し、色素として適している。複素環やカルボキシル基の位置が異なる(7)~(10)について変換効率を比較した場合、(7)が最も高く1.9%であることが報告されている¹¹。この(7)の窒素-カルボキシル基間のメチレン鎖を伸ばした(11)では変換効率が3.0%となり¹²、反対側の窒素上のアルキル鎖を長くした(12)では変換効率が4.5%に達した¹³。

メロシアンイン系色素は、酸化チタン表面に吸着する際にJ会合体を形成する傾向が高い。(7)と(12)の差

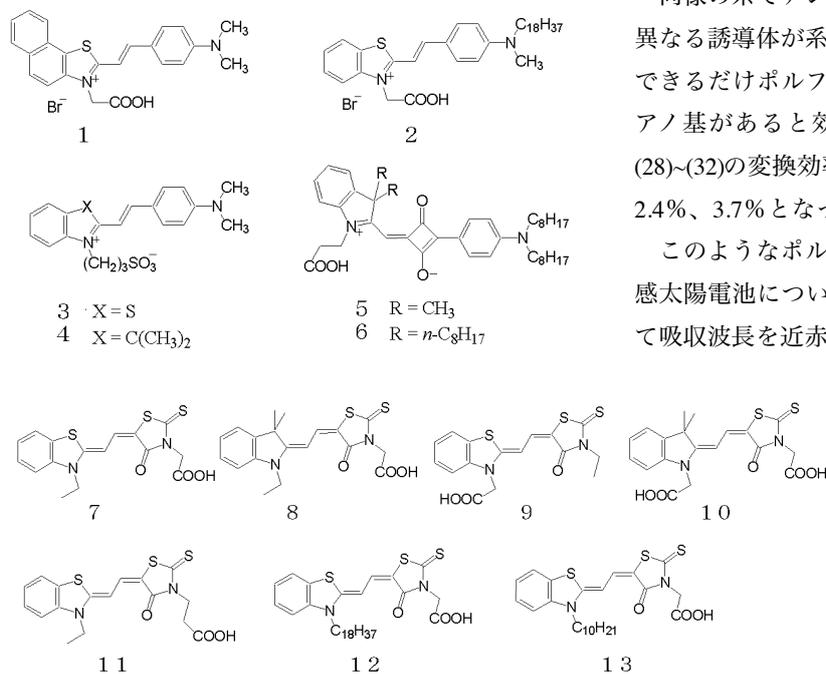
は、その会合状態の違いによるとみられる。少しアルキル鎖の短い(13)でもJ会合体の形成が見られ、変換効率3.8%が得られているが、この系ではC10程度の鎖長が必要とされている。これに対し、複素環をチアジアゾールとし、共役鎖上にフェニル基を導入したメロシアンイン(14)~(22)ではメチル基でもJ会合体が安定に形成され、(21)で変換効率4.2%が達成されている¹⁴。

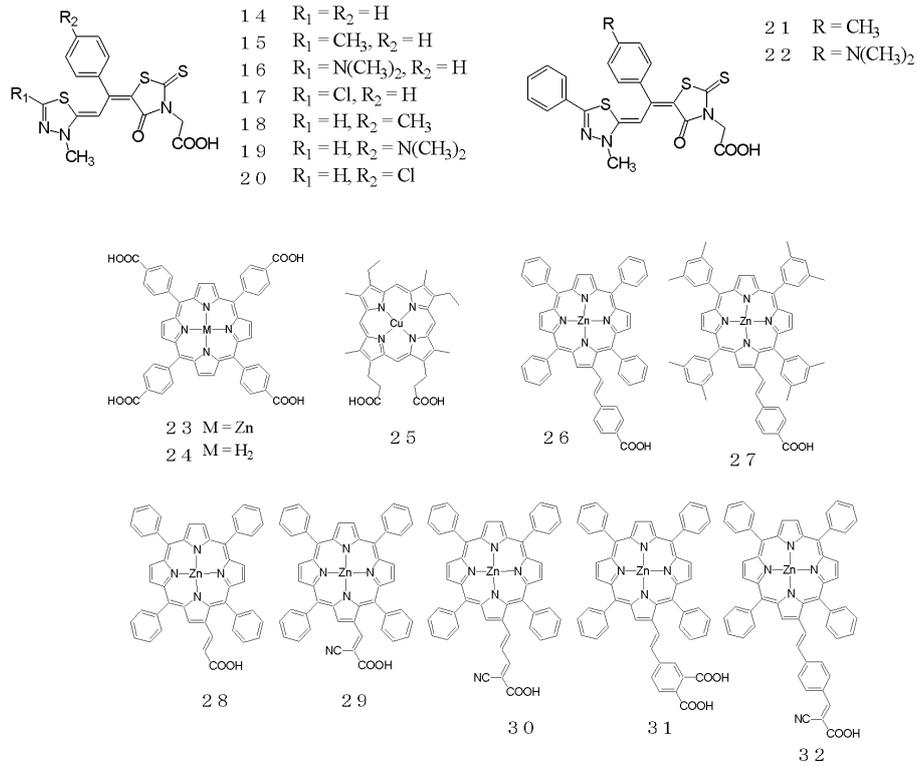
次に重要な因子となるのが、分子の高い吸光度である。ポルフィリンやフタロシアンインは大環状π電子系をもち、高い吸光係数を示すばかりでなく、酸化還元に対して比較的安定である。中心金属や周縁置換基を変えることにより、基本的な電子構造を崩すことなく微妙な変調を加えることが可能であり、多くの検討の余地がある。吸着置換基としては、今のところカルボキシル基が最良と考えられている。ポルフィリン系の中で最も多く検討されているのが4ヶ所のメソ位置置換基がカルボキシフェニルであるTCPP (23, 24)である¹⁵。フリーベースTCPPで変換効率3%の報告がある。ポルフィリン環に共役していないカルボキシル基が2つ導入された銅ポルフィリン(25)では、変換効率2.6%であった¹⁶。ポルフィリン環に共役したカルボキシフェニル基を1つもつ亜鉛ポルフィリン(26)では変換効率が4.2%となり、さらにメソ位置置換基をフェニルからキシリルにした(27)では4.8%となった¹⁷。これは置換基が大きくなり、立体障害によって分子間会合がおさえられた結果であると考えられる。

同様の系でアンカーとなるカルボキシル基の位置が異なる誘導体が系統的に検討され、カルボキシル基はできるだけポルフィリンに近いほうがよく、近くにシアノ基があると効率が向上することがわかる¹⁸。(28)~(32)の変換効率は、順に4.0%、5.2%、4.0%、2.4%、3.7%となっている。

このようなポルフィリンを増感色素に用いた色素増感太陽電池について、ポルフィリンオリゴマーを用いて吸収波長を近赤外領域に伸ばし、光エネルギー変換

効率を上げる試みがなされている¹⁹。(33)は「メソ位直結型ポルフィリンダイマー」であるが、この色素を用いたDSSCでは多量体にすることでモル吸光係数を稼ぎ、2.3%の変換効率が得られている。この場合、中心金属を変え、非対称錯体とする





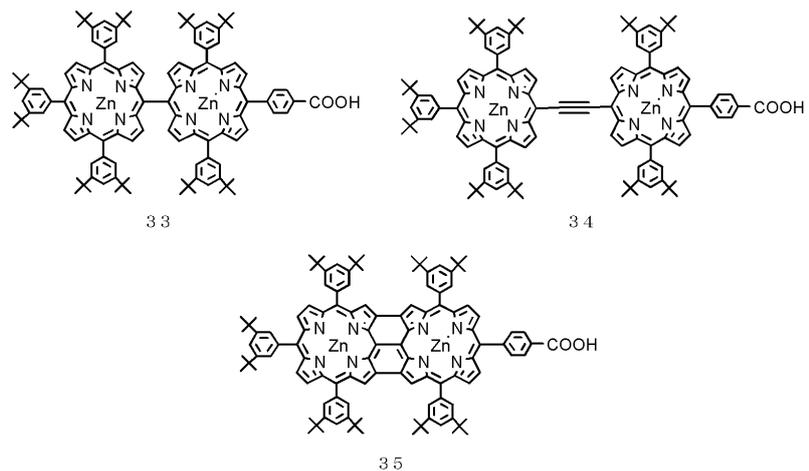
ことで変換効率が向上することも見出している。これらのDSSCは700 nm 程度まで光電変換が可能であるが、アセチレンで架橋したポルフィリンダイマー(34)では変換効率は4.9% まで上昇し、光電変換は900 nm 程度まで可能になることがわかった。さらに共役系を拡張するために合成した(35)では、変換効率は低いものの光電変換は 1200 nm 程度まで可能になることがわかった。これは、現状のDSSCで最も長波長の光電変換である。

さらに効率を上げる試みとして、2種類の色素を組み合わせる方法も検討されている。これは丁度植物の光合成系で吸収波長の異なる系Iと系IIがあるのと類似している。太陽電池の場合は、吸収ピークの異なる2種類の色素増感太陽電池セルを重ねて組み合わせる「タンデム型」や、ひとつの色素増感太陽電池セルに2種類の色素を混ぜて使う「カクテル型」、あるいはその発展形として酸化チタン多孔膜の厚さ方向に異なる色素を積層して吸着させるものなどがある。これらは、光合成の組織を意識して作られたものではない

が、高効率化を目指す上でたまたま類似の方法が使われているもので、興味深い結果と言えよう。

5. DSSCをベースにした蓄電できる太陽電池

太陽電池が植物の光合成系と最も異なる点は、エネルギーをためられるかどうかだろう。太陽電池は、吸収した光エネルギーをその場で電気に変換するため、普通はエネルギーをためることができない。このため、太陽電池は一般に光強度に依存して出力が大きく変動する。エネルギーをためるためには、太陽電池に外部二次電池を組み合わせる必要があるのである。ところが、DSSCをはじめとする湿式太陽電池（光電気



化学セル)は、シリコン太陽電池など既存のpn接合タイプの太陽電池とは異なり、光エネルギーをいったん化学エネルギーに変換した後に電気エネルギーに変換する独特な反応機構のため、構造を工夫すれば二次電池との一体化が可能になる。この点に着目して、われわれは「エネルギー貯蔵型色素増感太陽電池」(Energy-Storable Dye-Sensitized Solar Cell, ES-DSSC)を開発した²⁰⁾。

従来から光電気化学セルに蓄電機能を持たせる試みはいくつかあったが、実用的な電池の報告はほとんど無かった。われわれは、DSSCと二次電池を融合した3極式セルを採用し、図3に示すES-DSSCを作成した。外部回路に負荷がない時、光エネルギーは化学エネルギーに変換され貯蔵される。また、太陽電池出力時にも充電が行え、照射時および放電時においても同じ方向に出力が取り出せる。ES-DSSCでは、DSSC部分以外に電荷を蓄積するレドックス対を含む半電池が必要である。この半電池部分を電荷蓄積セル、電極を電荷蓄積電極と呼ぶ。DSSC部分は基本的にはグレッツェルセルと同じ構成で電解質溶液はヨウ素レドックス対(I^-/I_3^-)を含む非水溶媒を用いた。対極にはヨウ素レドックスに対する触媒作用がある白金メッシュを用いた。電荷蓄積部分には TiO_2 光アノードからの電子を有効に蓄えられる電位を持つ材料(蓄電材料)として導電性高分子を用いているが、この選択はES-DSSCの作成でキーポイントの一つとなる。ポリピロールやポリアニリンなどの導電性高分子は、電気化学的に酸

化するとポリマーの鎖内にカチオンを生じて対アニオンを取りこみ安定化(ドーブ)する。逆に電気化学的に還元すると電子をため込んで対アニオンを吐き出す(脱ドーブ)。これらのドーブ脱ドーブに伴う電気化学反応を利用することで、二次電池材料として研究されてきた。本研究では主としてポリピロールを負極材料として利用している。照射時にA-B間を閉じC-D間が開放された状態は、光充電のみがおこる。C-D間に負荷がある状態では太陽電池出力しながら光充電もできる。暗時にC-D間に負荷がある場合、十分に光充電が行われていれば出力がとれる。DSSC部分と電荷蓄積部分との間に陽イオン交換膜が挟まれていることにより電荷蓄積部分で還元された導電性高分子はDSSC内のヨウ素レドックスにより酸化されることなく還元状態が維持される。照射によって生じたエネルギーは、このイオン交換膜の両端に電位差として蓄えられるわけで、葉緑体中のチラコイド膜の両端に光合成初期過程で発生させている電位差を太陽電池で作っているようなものである。このES-DSSCでは、ヨウ素レドックスの酸化還元電位 $E(I^-/I_3^-)$ と電荷蓄積部分の導電性高分子の酸化還元電位 $E(\text{redox})$ との差の化学エネルギーとして、光エネルギーが電気エネルギーに変換されて貯蔵されている。原理的には開回路電圧の最大値 V_{max} は、 $E(I^-/I_3^-)$ と $E(\text{redox})$ との差の電圧に保持される。現在は、導電性高分子などの有機材料に変わり、無機系蓄電材料である酸化タングステンを用いた高性能セルや、セル構造を変えた様々なタイプの光蓄電池、光キャパシタなどが作られている。

6. おわりに

DSSCは、印刷手法による大量生産も可能なことから多くの注目を集め、数々の企業も研究開発に関わっている。独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)では、太陽光発電システム未来技術研究開発のなかで「色素増感太陽電池の高効率化技術またはモジュール化技術・耐久性向上技術」を大きく取り上げている。DSSCの研究開発は、シリコン太陽電池の歴史と比べると、まだまだスタートしたばかりであり、今後の発展が期待される。実用化に至るには性能とコストと耐久性の全てをバランスさせる必要があり、まだまだ解決すべき課題も多いが、同じように有機分子の光誘起電子移動を使った植物の光合成機能

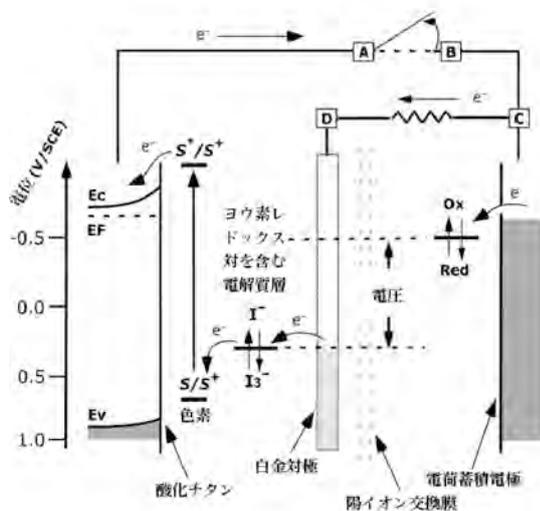


図3 エネルギー貯蔵型色素増感太陽電池 (ES-DSSC) のエネルギー準位および作動原理

に学べる部分が多いだろう。光合成色素系に関する長年にわたる基礎研究の蓄積を、是非このような応用研究にも活かしていただきたいと思う。次世代太陽電池の研究開発には、物理、化学、生物の垣根を越えた様々な分野からの寄与が必要であり、今後幅広い分野からの参加により一層研究開発が加速すると考えられる。

謝辞

本稿の一部には、久保貴哉、内田聡、中崎城太郎、玉木浩一、ジョアンティングデイ、齋藤陽介各氏らとの共同研究が含まれている。ここに謝辞を申し上げる。

Received November 15, 2009, Accepted November 28, 2009, Published December 31, 2009

参考文献

1. Fujishima, A., and Honda, K. (1972) *Nature* 238, 37-38.
2. Tsubomura, H., Matsumura, M., Nomura, Y., and Amamiya, T. (1976) *Nature* 261, 402-403.
3. Anderson, S., Constable, E. C., Dareedwards, M. P., Goodenough, J. B., Hamnett, A., Seddon, K. R., and Wright, R. D. (1979) *Nature* 280, 571-573.
4. O'Regan, B., and Gratzel, M. (1991) *Nature* 353, 737-740.
5. Nazeeruddin, M. K., Kay, A., Rodicio, I., Humphry-Baker, R., Muller, E., Liska, P., Vlachopoulos, N., and Gratzel, M. (1993) *J. Am. Chem. Soc.* 115, 6382-6390.
6. Tennakone, K., Kumara, G. R. R. A., Kottegeda, I. R. M., Wijajantha, M. G. U., and Perera, U. P. S. (1998) *J. Phys. D.* 31, 1492-1496.
7. Murai, S., Mikoshiba, S., Sumino, H., and Hayase, S. (2002) *J. Photochem. Photobiol.* 148, 33-39.
8. Lindstrom, H., Holmberg, A., Magnusson, E., Malmqvist, L. and Hagfeldt, A., (1979) *J. Photochem. Photobiol. A, Chem.* 145, 107-112.
9. 吉田 司, 箕浦秀樹 (2003) *機能材料* 23, 5-18.
10. JP2003-234133 (林原); Wang, Z. -S., Li, F. Y., Huang, C. -H. (2001) *J. Phys. Chem. B* 105, 9210-9217.
11. Sayama, K., Hara, K., Mori, N., Satsuki, M., Suga, S., Tsukagoshi, S., Abe, Y., Sugihara, H., and Arakawa, H. (2000) *Chem. Commun.* 1173-1174; Sayama, K., Tsukagoshi, S., Hara, K., Ohga, Y., Shinpou, A., Abe, Y., Suga, S., and Arakawa, H. (2002) *J. Phys. Chem. B* 106, 1363-1371; 特公第3680094 (産総研2000).
12. 特開平11-238905 (富士フィルム).
13. 特公第3680094 (産総研2000).
14. 堀内, 三浦, JP2002-150014 (三菱製紙).
15. Kalyanasundaram, K., Vlachopoulos, N., Krishnan, V., Monnier, A., and Grätzel, M. (1987) *J. Phys. Chem.* 91, 2342-2347.
16. Kay, A., and Grätzel, M. (1993) *J. Phys. Chem.* 97, 6272-6277.
17. Nazeeruddin, M. K., Humphry-Baker, R., Officer, D. L., Campbell, W. M., Burrell, A. K., and Grätzel, M. (2004) *Langmuir* 20, 6514-6517; Campbell, W. M., Burrell, A. K., Officer, D. L., and Jolley, K. W. (2004) *Coordination Chem. Rev.* 248, 1363-1379.
18. Wang, Q., Campbell, W. M., Bonfantani, E. E., Jolley, K. W., Officer, D. L., Walsh, P. J., Gordon, K., Humphry-Baker, R., Nazeeruddin, M. K., and Grätzel, M. (2005) *J. Phys. Chem. B* 109, 15397-15409.
19. Dy, J. T., Tamaki, K., Sanehira, Y., Nakazaki, J., Uchida, S., Kubo, T., and Segawa, H. (2009) *Electrochemistry* 77, 206-209.
20. Nagai, H., and Segawa, H. (2004) *Chem. Commun.* 974-975; 瀬川浩司 (2005) *高分子* 54, 887; 瀬川浩司 (2006) *化学工業* 57, 96-101; 瀬川浩司 (2006) *O puls E* 28, 922-926; 齋藤陽介, 瀬川浩司 (2007) *化学工業* 58, 227-232; 瀬川浩司 (2007) *化学と工業* 60, 997; 瀬川浩司 (2008) *工業材料* 56, 42-45; 瀬川浩司 (2008) *太陽エネルギー* 34, 25-29; Saito, Y., Uchida, S., Kubo, T., and Segawa, H. (2008) *ECS Transactions* 16, 27-34; 齋藤陽介, 瀬川浩司 (2009) *化学工業* 60, 300-304; Saito, Y., Uchida, S., Kubo, T., and Segawa, H. (2009) *Thin Solid Films*, in press.

Development of Dye-Sensitized Solar Cells Inspired by Photosynthetic Systems

Hiroshi Segawa*

Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo

解説

クロロフィルの分子化石ポルフィリンの地球科学[‡]

海洋研究開発機構 海洋極限環境生物圏領域

大河内 直彦^{*}, 柏山 祐一郎

クロロフィルの分解生成物であるポルフィリンは、さまざまな地質学的試料中に含まれており、太古の昔の環境復元に役立つツールである。クロロフィルの中心環は一連の分解プロセスを経た後、堆積物中で酸化バナジウムやニッケルなどを配位した金属ポルフィリン錯体に変質する。特にDPEPと呼ばれるポルフィリンは、多くの地質学的試料において最も多量に見出され、その構造上の類似性からクロロフィルaを主たる起源とする分子化石であると考えられている。ポルフィリンのアルキル基やexo環構造などの構造的特徴は、その起源化合物である各種（バクテリア）クロロフィルの構造を反映していると考えられている。したがって各種ポルフィリンの組成は、当時の光合成生物の組成について情報をもたらしてくれる。さらにポルフィリンを構成する炭素原子や窒素原子の安定同位体比を分析することによって、当時の海洋表層環境の復元に役立つさまざまな情報が得られる。本稿ではこのような研究方法の原理について概略を述べ、研究例として石油の根源岩であり白亜紀に堆積した「黒色頁岩」が形成された当時の海洋表層環境の復元について紹介する。

1. はじめに

現在の地球上では、年間12億トン近くものクロロフィルが合成されている。そのうち湖沼や海洋といった水界中で合成されているものは、その7割余りにあたる9億トン弱に達する¹⁾。湖沼や海洋の有光層において光合成生物によって合成されたクロロフィルは、生物体の死後、遺骸とともに重力沈降し海底面へと運ばれる。そのほとんどは時間をかけて分解されて最終的に無機化されるが、一部のものは海底堆積物中に埋没されそこで長らく保存される。保存の過程で、クロロフィルは化学的あるいは微生物学的な変質を受け、その構造は徐々に変化していく。

本稿で取り上げるポルフィリン (porphyrin) とは、図1(a)に示すような、環状テトラピロール構造をもつ化合物のことである。その構造がクロロフィルの中心環と類似していることから、クロロフィルが堆積物中で分解を受けて変質した化合物であろうと推定されてきた。このポルフィリン化合物群は、過去70年以上にわたる研究によって、堆積物、堆積岩、オイルシェール、石油、石炭などさまざまな地質学的試料中から広く見出されてきた。1930年代に化石ポルフィリンを堆積岩などから初めて見出したミュンヘン工科大学の

Alfred Treibs は、これらがクロロフィルやヘムといった生体分子と非常に類似した化学構造をもつことを指摘した^{2,3)}。Treibsは、ヘムやクロロフィルの有機合成の成果により1934年にノーベル化学賞を受賞したHans Fischerの研究室で助手を勤めていた人物である。この研究は、後に大きく

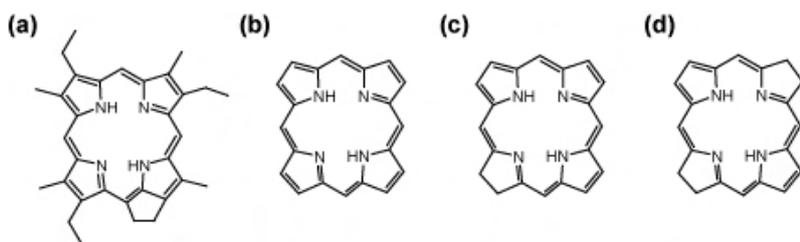


図1 (a) ポルフィリン、(b) ポルフィン、(c) クロリン (ジヒドロポルフィン)、(d) バクテリオクロリン (テトラヒドロポルフィン)

[‡] 解説特集「光合成研究 —化学からのアプローチ—」

^{*} 連絡先 E-mail: nohkouchi@jamstec.go.jp

発展する「バイオマーカー（生物指標性化合物）」という概念と有機地球化学という分野の原点と位置づけられ、ポルフィリンは有機地球化学の分野において長らく「レガシー分子」として君臨し続けている（国際有機地球化学会における最高の栄誉は、Treibsの名を冠した「Alfred Treibs Medal」である）。実際、過去の光合成生物の復元を目的としたとき、有用さと信頼度の高さという点においてこれに肩を並べるほどのツールは他に見当たらない。このようなことから、Treibs以降ポルフィリンをバイオマーカーとして用いた地球化学的な研究が長らく行われてきた。

ただし、地質学的試料中に分布しているポルフィリンは、類似した構造をもつ多種多様な化合物の集合体であり、Treibs が構造を決定した 2 種類のポルフィリンは、その中の代表的なものに過ぎない。試料中に含まれる数十種類もの微量なポルフィリンを個々に単離・精製し、その厳密な構造決定を行うことは非常に手間がかかるだけでなく、現代の科学でも高い分析技術力を必要としている。それゆえ、ポルフィリンを用いた地球科学的な研究は、高度な分析技術をもつ一部の研究グループに限定されてきた。近年の分析機器の高性能化やハイスループット化、オートメーション化などが発展してきたおかげで、ポルフィリンの地球科学的な応用研究のハードルは時代とともに徐々に下がりがつつある。最近になり筆者のグループでは、微量のポルフィリンの炭素および窒素安定同位体比を測定する技術を新たに開発し、その起源やそれを用いた過去の地球環境の復元に関してより深い考察が可能となった。本稿では、このような現状において、ポルフィリンの地球科学的な側面について概略を述べ、今後の研究の指針としたい。

これまで、各時代に優れた総説論文が書かれてきた^{4,9)}。また、1990 年には第 199 回アメリカ化学会年会において、当時のこの分野の最先端の研究者らが集い、「Porphyrin Geochemistry – The Quest for Analytical Reliability」という標題のシンポジウムが開催された¹⁰⁾。このシンポジウムの研究発表の内容は、アメリカ化学会が発行する *Energy & Fuel* 誌に特集号として収録されている。ポルフィリンの研究を行う人には、是非それらも併せて読むことをお勧めする。地質学的試料中に含まれるポルフィリンについて、これまで日本語で書かれた総説はなく、本稿は有機地球化学者以外の研究者にも読めるように配慮したつもりである。

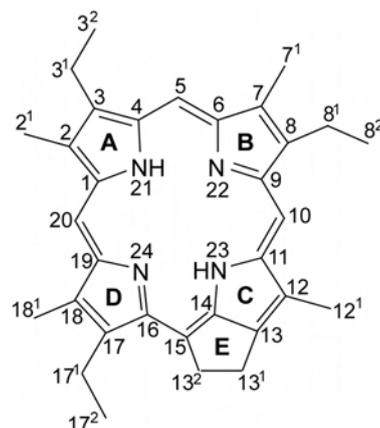


図2 ポルフィリンを構成する各炭素・窒素原子のIUPAC/IUB協定による位置番号

なお、本稿では地球科学的な応用に用いられるポルフィリンに限定するため、「ポルフィリン」という用語で統一するが、一般的には *fossil porphyrin*, *petroporphyrin*, *geoporphyrin*, *metalloporphyrin*, *metalloalkylporphyrin*, *sedimentary porphyrin* など様々な用語が用いられていることを付記しておく。

2. ポルフィリンの構造と命名法

本稿を理解するために、まずポルフィリンの構造とその命名法について簡単に解説しておこう。4分子のピロールがメチン橋を通して環状に結びついた構造は、「ポルフィン (porphin(e))」と呼ばれる (図 1 (b))。このポルフィンがアルキル基によって修飾されたものが、「ポルフィリン (porphyrin)」である。また、クロロフィルの中心環のように環状構造の一部が飽和したものをクロリン (あるいはジヒドロポルフィン、図 1 (c))、またバクテリオクロロフィルのようにさらに飽和したものをバクテリオクロリン (あるいはテトラヒドロポルフィン、図 1 (d)) と呼ぶ。太古の昔に海底で形成された堆積岩や、それが変質することによって形成された石油・石炭などの地質学的試料中に見出されるものは、ごくわずかな例外を除きほとんどがポルフィリンである。

まず天然中に最も広く分布するクロロフィルであるクロロフィル *a* と、その分解生成物と考えられている *deoxyphyloerythroetioporphyrin* (DPEP) を例にして、その化学構造と IUPAC-IUB (International Union of Pure and Applied Chemistry-International Union of Biochemistry and Molecular Biology) による命名法について解説しよう。4 つあるピロール環を左上から時計

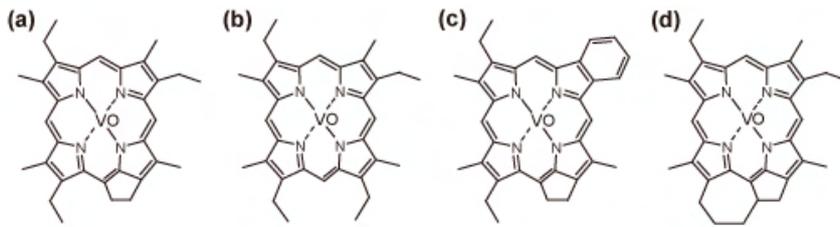


図3 地質学的試料中からしばしば見出される主要なVOポルフィリン

(a) deoxyphyloerythroetioporphyrin (DPEP)、(b) etioporphyrin III (ETIO)、(c) rhodoporphyrin、(d) bicycloalkanoporphyrin (BiCAP)。

回りにA環、B環、C環、D環と呼び、C環の下に五員環をもつ場合は、それをE環と呼ぶ(図2)。テトラピロール骨格の炭素は、A環左下の炭素を1位し、その後時計回りに一周20位までとする。また骨格内部に位置する窒素は、その続きでA環から時計回りに数えていく。すなわち、A環の窒素は21位、B環は22位、C環は23位、D環は24位ということになる(図2)。また、骨格を修飾しているアルキル基の炭素は、C2¹、C3¹、C3²...といったようにそれが結合している骨格の炭素位の番号の右肩に、テトラピロール骨格に近い方から順番に数字を振っていく。

ポルフィリンあるいはクロリンといった構造は、生体内においてクロロフィル、ヘム、ビタミンB₁₂、シロヘムといった重要な機能をもつ複数の化合物の構造の一部を成している。ただし、天然中における合成量としては圧倒的にクロロフィルが多いので、地質試料中に含まれるポルフィリンの起源もクロロフィルがもっとも多いだろうと考えられてきた。実際に、多くの地質学的試料中にもっとも多く含まれるポルフィリンは、上述のDPEPである(図3(a))¹⁾。このポルフィリンの構造は、C2、C7、C12、C18位にメチル基、C3、C8、C17位にエチル基というアルキル基によって置換されると同時に、C環の下に五員環をもっている。この化合物は、正式には3,8,17-triethyl-13¹,13²-dehydro-2,7,12,18-tetramethylcyclopentaporphyrinと呼ぶべきだが、あまりにも長いので通称「DPEP」が広く用いられてきた。DPEPの化学構造は、クロロフィルやバクテリオクロロフィルの中心骨格に非常に類似している(図3(a))。この構造の類似性をもとに、この化合物の構造をはじめて明らかにしたTreibs(1936)は、DPEPがクロロフィルに起源をもつ化合物であると提唱した(当時はクロロフィルaとクロロフィルbしか知られていなかった)。DPEPから一部のメチル基が脱離したもの、あるいはDPEPのいずれかのエチル基が何らか

のプロセスでメチル基に置換されて炭素数が1つ減じたものは、炭素数を示して「C₃₁DPEP」と呼ばれることが多い。あるいは、たとえばC7位のメチル基が脱離した場合、C7-nor-DPEPというふうにも呼ばれることもある。

地質試料中に見出されるもう

ひとつの重要なポルフィリンの構造は、etioporphyrin III (ETIO) と呼ばれるのである(図3(b))。これもTreibsによって初めて記載されたもので、クロロフィルやDPEPに特徴的なE環をもたず、C2、C7、C12、C18位にメチル基、C3、C8、C13、C17位にエチル基をもつポルフィリンである。構造がヘムに類似していることから、ETIOはヘムが堆積物中で各種化学的・微生物学的作用を受けて生成されたものであると提唱された²⁾。その後の研究によると、ETIOもDPEP同様、炭素数32のものだけではなく、多様な炭素数をものが報告されている。地質試料中には、これ以外にもDPEPにベンゼン環が融合したロードポルフィリン(rhodoporphyrin、図3(c))と呼ばれるグループや、BiCAP (bicycloalkanoporphyrin、図3(d))と呼ばれるポルフィリン環の下部に複数の環状構造をもつグループも少なからず含まれている。2009年時点で、地質学的試料中から厳密に構造決定されたポルフィリンは、70種類以上に及んでいる。

ポルフィリン環はπ電子に富む共鳴構造をもっているため、クロロフィルと同じく光エネルギーの強い吸収をもっている。吸収の大部分は可視光領域にあり、400 nm付近(ソーレー帯)の強い吸収と、500-700 nm(Q帯)に弱い吸収をもっている。図4には、VO-DPEP(酸化バナジウム錯体)とクロロフィルaの吸収スペクトルを比較した。ポルフィリンの場合、A、B、C、D環がシンメトリーであるため、クロロフィルaのようにD環の一部が飽和している場合と比べて電子の局在化がなく、吸収帯がより高いエネルギー側(短波長側)に分布している(図4)。たとえば、クロロフィルaのソーレー帯の中心は430 nmにあるのに対し、酸化バナジウムを中心に配位したDPEPの最大波長は408 nm付近にある。ポルフィリンはQ帯の吸収が比較的弱いため、赤味を帯びた色をもっている。ちなみに「porphyrin」とは、ギリシャ語の porphyra (=purple)

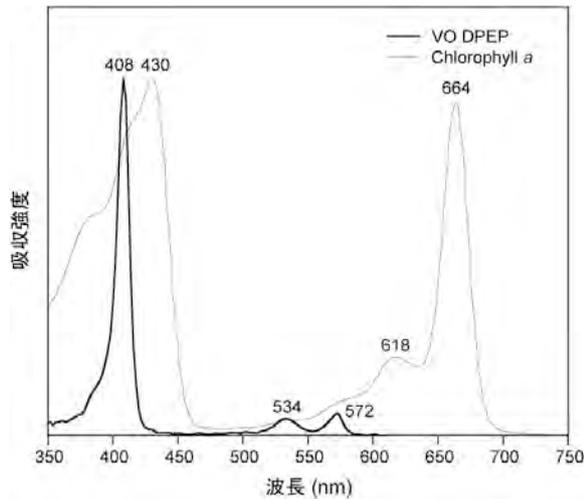


図4 クロロフィルaとポルフィリン (VO-DPEP) の吸収スペクトルの比較

を語源としており、鉄と結合したポルフィリン、すなわちヘムが深い赤色をしていたことに由来している。

ポルフィリン環の中心に配位する金属イオンについても簡単に述べておこう。地質学的試料中に含まれるポルフィリン環の中心には、多くの場合金属イオンが配位し金属ポルフィリン錯体を形成している⁸⁾。クロロフィルに配位する金属イオンはごく一部の例外を除いてマグネシウムイオン (Mg^{2+}) であり、またヘムに配位しているのは鉄イオン (Fe^{2+}) だが、地質試料中のポルフィリンにもっとも多量に見出される中心金属イオンは、酸化バナジウムイオン (VO^{2+}) とニッケルイオン (Ni^{2+}) であり、銅イオン (Cu^{2+}) がそれに続いている。それ以外に、比較的微量ながら鉄イオン (Fe^{3+})¹²⁾、ガリウムイオン (Ga^{3+})¹³⁾、マンガニオン (Mn^{3+})¹⁴⁾、亜鉛イオン (Zn^{2+})¹⁵⁾などがこれまで報告されている。熱力学的な安定性という観点からすると、酸化バナジウムイオンとニッケルイオンはいずれもポルフィリン環の中心に配位する金属イオンとして非常に安定であることが知られており¹⁶⁾、地質学的な記録と整合的である。しかしその一方で、理論的には酸化バナジウムイオンとニッケルイオンよりも安定と予測される金イオン (Au^{3+}) や白金イオン (Pt^{4+})¹⁷⁾を配位したポルフィリンが報告された例は現時点でない。なぜ地殻中に平均して 100-200 ppm しか含まれないバナジウムとニッケルだけがポルフィリン環に配位しやすいのかについて、現時点で明確な答えはない。またポルフィリン中のバナジウムイオンとニッケルイ

オンの存在比は、堆積環境中の酸性度、酸化還元電位、硫黄濃度が重要な要素だという指摘もある¹⁸⁾。

ポルフィリンの構造決定法についても簡単に解説しておこう。ポルフィリン環を修飾するアルキル基は、ポルフィリン環の電子の共役系にほとんど影響を及ぼさない。したがって、地質試料中に含まれるポルフィリンの構造決定には、吸収スペクトルの情報はあまり有用ではない。これまで、ポルフィリンの化学構造の決定の一助としてしばしば用いられてきたのが、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に直結した大気圧化学イオン化法質量分析計 (APCI-MS) である。通常強い分子イオンとその同位体イオンがみられるため、それらの情報からポルフィリンの炭素数と中心金属について推定することができる¹⁹⁾。さらにイオントラップ型の質量分析計を用いることにより、特定のフラグメントイオンの娘イオン、孫イオンを用いた構造決定の試みもなされてきた²⁰⁾。しかし、ポルフィリンの化学構造の厳密な決定には、ほとんどの場合において質量分析計では不十分である。これはポルフィリンが構造的に非常に安定であるため、フラグメントイオンがほとんど生じないからだけでなく、空間的に対象性の高い化合物であるためアルキル基の配置情報が得にくいことにもある。そのため、厳密な構造の決定には核磁気共鳴装置 (NMR: Nuclear Magnetic Resonance) あるいはX線回折装置が用いられてきた。

ニッケルポルフィリンおよび金属イオンを含まないポルフィリンの構造決定に関しては、 1H NMR が有用である。それに対し、地質試料中に見出されるポルフィリンのうち最も多い酸化バナジウムや銅の錯体は、それらの金属が常磁性であるため、NMRを用いて構造決定することは難しい。それらについては、メタンスルホン酸や濃硫酸で処理することによって、金属イオンを脱離してからNMRによる測定が行われることもある。ただし、VOポルフィリンから金属イオンを取り除く化学反応は収率が通常非常に低いため、地質試料から単離されるポルフィリンのように微量な試料の場合、その手法はあまり有効とは言い難い。地質試料中のVOポルフィリンやCuポルフィリンの構造決定には、最近進展著しい単結晶X線結晶構造解析法がもっとも有用である。これは、精製したポルフィリンをまず結晶化して、その結晶構造をX線の回折現象を応用して決定するというものである²¹⁻²³⁾。新しいポ

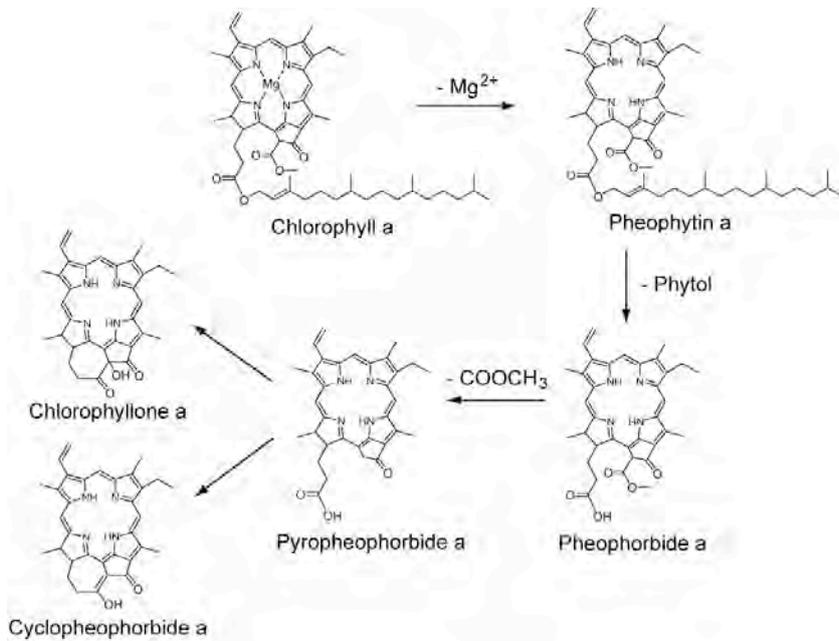


図5 現在の海底に形成されている堆積物中で起きているクロロフィルaの分解プロセスとその中間生成物

ルフィリンを記載する際には、NMRの化学シフトかX線回折による結晶データを示す必要がある

3. 地質試料中におけるポルフィリンの生成過程

環境試料や地質試料中に見られるポルフィリンが、クロロフィルから生成されるには、数多くの反応が関わる必要がある。ここではまず代表的な系として、まずクロロフィルaからDPEPに変質する場合について考えてみることにしよう。この変質の経路はAlfred Treibsによって提唱された経路で、一般に「Treibs scheme」と呼ばれるものである。このTreibs schemeでは、以下の8つの化学反応が起きなければならない。すなわち、

1. マグネシウムの脱離
2. フィトール側鎖の脱離 (エステル加水分解)
3. C13²位のカルボメトキシ基の脱離
4. C3位のビニル基の還元
5. C13¹位のケトン基の還元
6. C17-C18結合の酸化 (ポルフィリン環の形成)
7. C17³位の脱炭酸
8. 金属錯体の形成 (酸化バナジウムイオンやニッケルイオンの挿入)

ただし、天然環境中においてクロロフィルからポルフィリンが形成されるのに、必ずしも上で示した順序で反応が進むとは限らない^{24,25)}。またこれ以外の化学

反応を示唆する中間生成物も堆積物中から多数見出されている。

反応1では、クロロフィルの中心環からマグネシウムイオンが脱離して2個の水素原子によって置換された結果、フェオフィチン (pheophytin) が生成される (図5)。クロロフィルaからマグネシウムイオンが脱離したフェオフィチンaは、ソーレー帯の最大吸収が410nm弱にあり、褐色を呈する化合物である。このフェオフィチンはわずかだが光合成生物にも含まれていて、光化学系II系の反応中心において電子伝達に役立っている。とはいえ、水界中に見出されるフェオフィチンのほ

とんどは、クロロフィルの分解過程における中間生成物と考えられている。海洋や湖沼で見出される動物プランクトンの排泄物質中には、フェオフィチンがクロロフィルに対して多量に含まれており²⁶⁾、クロロフィルからマグネシウムイオンの脱離反応は、摂食というプロセスによって促進されるようだ。

陸上高等植物の場合、合成されたクロロフィルのほとんどは、落葉の前にクロリン環が開環した無色の化合物にまで酸化分解される²⁷⁾。したがって、水界の堆積物にまで移動してそこで保存される陸上高等植物起源のクロロフィル量は無視できるほど小さいと考えられている。実際、フェオフィチンなどの炭素と水素の安定同位体比を研究した Chikaraishi et al. (2007)²⁸⁾によると、榛名湖のような小さな湖沼においても、その湖底に沈殿しているクロロフィルやその分解生成物は、大部分が水界中の光合成生物に由来するもので、湖沼の周囲の陸上植物からの寄与はほとんどないと推定された。したがって、陸域から比較的離れた海域で形成された堆積物中に残されているポルフィリンは、基本的に当時の水界中の光合成生物によって合成されたものと考えてよいだろう。

現在の海底や湖底にたまっている堆積物を分析すると、上述の反応1から反応3までの中間生成物はふつうに見出すことができる¹⁾。すなわち、それらの反応は比較的素早く起きる。反応1および2の生成物はフェ

オフォルバイド (pheophorbide)、反応1および3の生成物はパイロフェオフィチン (pyropheophytin)、反応1、2、3による生成物はパイロフェオフォルバイド (pyropheophorbide) と呼ばれる (図5)。現在の堆積物中によく見出されるその他のクロロフィル誘導体としては、パイロフェオフォルバイドのD環の下に七員環をもつクロロフィロン(chlorophyllone)やシクロフェオフォルバイド(cyclopheophorbide)などがある (図5)。

それに対し、反応1-4による中間生成物 (mesopyropheophorbide) および反応1-5による中間生成物 (deoxomesopyropheophorbide) は軽度の続成作用を受けた堆積物から限定的に報告があるのみであり²⁹⁾、海洋や湖沼の表層堆積物中からは全く検出されない。ビニル基やケトンの還元が、自然環境中ではそう簡単には起きないことを示唆している。一方、反応1-6の中間生成物である deoxophylloerythrin (DPE) は、ある程度の続成作用を受けた堆積物試料から多量に見出すことができ、すでに²⁾によってその存在が報告されている。

反応8の金属錯体の形成は、従来反応3以降に起きると考えられていた。しかし筆者らは、およそ1万年前に網走湖で形成された堆積物中から、中心金属が銅イオン (Cu^{2+}) に置換されたバクテリオクロロフィル *e* を多量に見出している³⁰⁾。現時点で、天然中において銅イオンを含むバクテリオクロロフィル *e* は報告されていないので、おそらく堆積物中で二次的に生成されたものであろう。この場合、バクテリオクロロフィル *e* が分解の第一段階としてマグネシウムイオンが脱離してバクテリオフェオフィチン *e* になり、その直後に Cu^{2+} が挿入されたものと考えることができる。銅イオンを含む (バクテリオ) クロロフィルは比較的安定な化合物なので、一度銅イオンが挿入されると中間生成物として長期間存在しえることを示唆している。

こういった分解 (変質) 過程は、各クロロフィルによって少し異なっている。クロロフィル *a* のC3位のビニル基 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) は他の芳香族有機化合物と化学反応を起こすことで、最終的に水素に置換されることもあると考えられている^{31,32)}。また、クロロフィル *b* のC7位やクロロフィル *d* のC3位のフォルミル基 ($-\text{CHO}$) も脱離して水素に置換されやすい。したがって、C3-nor-DPEPはクロロフィル *a* もしくはクロロフィル *d* 由来で、C7-nor-DPEPはクロロフィル *b* 由来と考え

られている。さらに、水界中においてクロロフィル *a* に次いで多量に合成されているクロロフィル *c* が分解する場合、17-C17'位の炭素-炭素結合が開裂することによってC17位のアルキル鎖が脱離し、最終的にC17-nor-DPEPが生成される。またE環が変質して、methylcyclopentanoporphyrin (MeCPP) と呼ばれる化合物が形成される場合もある^{24,33-35)}。

クロロフィル *a* は、上述の通りDPEPに分解されるが、理論上クロロフィル *b* やバクテリオクロロフィル *a* の分解によってもDPEPが生成される可能性がある。ただしクロロフィル *b* の場合、上述した通りC7-nor-DPEPが形成される可能性もあり、どちらが形成されるかは堆積環境次第だろう。また炭素数34以上のポルフィリンは、C8位がプロピル基、イソブチル基、あるいはネオペンチル基に、C12位がエチル基に、あるいはC20位がメチル基に置換されているバクテリオクロロフィル *c*、*d*、*e* 以外からは生じえない。したがって、炭素数34以上のポルフィリンが堆積物中から見出された場合、当時直上の表層水には還元環境が存在してバクテリオクロロフィル *c*、*d*、*e* を合成する光合成細菌 (緑色硫黄細菌と緑色非硫黄細菌) が生息していたと考えることができる。このような分解過程をひとつずつ丹念に考えていくと、(バクテリオ) クロロフィルとポルフィリンの間で、起源化合物-生成化合物の対応関係が見えてくる。

注意が必要なのは、個々の (バクテリオ) クロロフィルの分解速度は異なることが想定され、堆積物中に見出される各ポルフィリンの存在比が、当時海洋表層で合成されたその起源化合物の合成量比には一致しないという点である。堆積物中の各種ポルフィリンの存在比は、当時の光合成生物を還元するうえで、あくまでも目安として捉えるべきものである。とはいえ、堆積物中に残された各種ポルフィリンの分布がもつ情報は、一部を除いて化石として残されることのない光合成生物の貴重な情報を与えてくれる。同じく堆積物中に残されたステロイド、ホパノイド、アルケノンなど他の二次代謝物の分解生成物の断片的な情報と合わせるにより、さらに確かな復元が可能になるだろう。

4. ポルフィリンの安定同位体組成

地質学的試料に含まれるポルフィリンから得られる情報には、各種ポルフィリンの組成や存在比の他に、

ポルフィリンを構成する炭素、窒素、水素などの安定同位体組成、すなわち¹³C/¹²C比、¹⁵N/¹⁴N比、D/H比がある。ポルフィリンの安定同位体比は、それが合成された当時の環境情報や、同化プロセスの情報を記録しているため、ポルフィリンの起源であるクロロフィルを合成した光合成生物の生理生態を論じるうえで重要な示唆を与えてくれる。その情報は、さらに古環境の推定に用いられるのである。天然レベルの安定同位体組成を用いる方法論は、元来地球科学の分野で発展した経緯があり、生理学ではあまり一般的なものではない。しかし、地質学的な時間を経ても変質しない炭素および窒素同位体記録は、時として化合物組成の記録よりも確かな情報をもたらしてくれる重要な方法論である。

ポルフィリンの安定同位体比を解釈するためには、クロロフィルの生合成経路とそれとともなう安定同位体比の変化について理解しておく必要がある。ここでは、クロロフィルの生合成プロセスの詳細について深く踏み込みこまないが、炭素および窒素同位体比を解釈するうえで必要なことについて解説することにしよう。

クロロフィルの中心骨格をなすクロリン環部は、基本的にグルタミン酸から生成されるアミノレブリン酸2分子が縮合して形成されるポルフォビリノーゲンが、4分子縮合したものである。したがって、クロロフィルの中心骨格が変質してできたポルフィリンの炭素同位体比は、当然ながら当時の光合成生物が合成し

たグルタミン酸の炭素同位体比を強く反映したものになる。グルタミン酸の炭素骨格は、クエン酸回路の中間生成物であるケトグルタル酸に由来している。そしてそのケトグルタル酸の炭素骨格は、アセチルCoAやクエン酸回路における各種中間生成物の骨格の炭素に由来する。これらの炭素は、究極的には RubisCO (リブローズ1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ) の触媒により固定された溶存態二酸化炭素 (CO_{2aq}) に由来する。その同位体比は、基質である溶存態二酸化炭素の炭素同位体比の炭素同位体比だけでなく、RuBisCOの反応の際の顕著な同位体分別 (¹²Cの選択的な反応) を反映し、基質に対して20-30%ほど低い値をとる。

図6は、DPEPおよびクロロフィルaを構成する個々の炭素が、グルタミン酸のどの位置の炭素に起源をもつのかについて示したものである^{36,37}。例えば、DPEPを構成する32個の炭素は、グルタミン酸のC1位からC4位の炭素 (それぞれ8個ずつ) に起源をもち、C5位の炭素はまったく含まれていない。すなわち、DPEPの炭素同位体比は理論上、グルタミン酸のC1-C4位の炭素同位体比の平均値に一致することになる。

興味深いことに、ポルフィリン環のメチン架橋 (C5, C10, C15, C20位) の4つ炭素は、いずれもグルタミン酸のC1位の炭素、すなわちアミノ基の隣のカルボキシル基の炭素に由来している (図6)。この炭素はクエン酸回路の中間生成物であるα-ケトグルタル

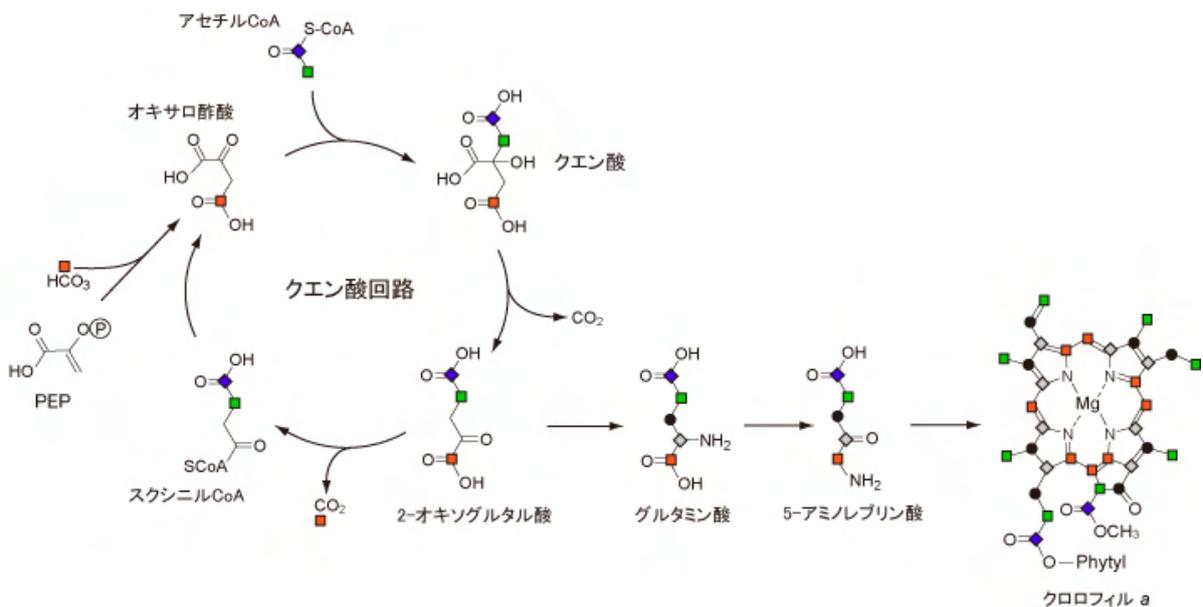


図6 クロロフィルの合成経路と、クロロフィルを構成する個々の炭素原子の起源の関係

酸のC1位の炭素に由来し、クエン酸回路をさらにたどっていくと、中間生成物であるオキサロ酢酸のC4位の炭素に由来することがわかる。PEP（ホスホエノールピルビン酸）カルボキシラーゼによるピルビン酸のβ-カルボキシル化によって生成するオキサロ酢酸が寄与する場合、オキサロ酢酸のC4位の炭素には、このβ-カルボキシル化のプロセスで固定される重炭酸イオンの炭素原子が混入する。通常の海洋では重炭酸イオン(HCO₃⁻)の炭素同位体比と溶解態二酸化炭素(CO_{2aq})の炭素同位体比を比べると、前者が10%ほど高い値をもっている³⁸⁾。したがって、クロロフィルにしろポルフィリンにしろ、メチン架橋を構成する4つの炭素原子の安定同位体比が測定できれば、光合成生物による重炭酸イオン同化の大まかな割合について推定することが可能である。実際にこの原理を用いて、筆者らは過去に生息した光合成生物の重炭酸イオンの平均的な同化率について推定した³⁷⁾。詳細は省くが、中新世（およそ1000万年前）の日本海で形成された堆積岩から、DPEP（主としてクロロフィル_a起源）とC17-nor-DPEP（クロロフィル_c起源）のメチン橋の炭素同位体比は、いずれも他の炭素原子の平均的な同位体比よりも約5%低い値を示した。このことから、当時の光合成生物によって固定された炭素が主として溶解態二酸化炭素であり、重炭酸イオンの同化はほとんど行われていなかったことが示唆された。

ポルフィリンの窒素同位体比は、光合成生物が生息していた当時の海洋表層水中における窒素サイクルについて重要な示唆を与えてくれる。クロロフィルの合成において、グルタミン酸がC5経路を経てアミノレブリン酸が生成される際、グルタミン酸のα位アミノ基がそのままアミノレブリン酸のδ位に転移する³⁹⁾。したがってアミノレブリン酸の窒素同位体比は、グルタミン酸の窒素同位体比を強く反映すると予測される。また藻類の研究によると、クロロフィルの窒素同位体比は細胞全体の平均的な窒素同位体比に比べて5%ほど低い値をもつことが知られている^{40,41)}。この同位体比の関係を利用して、それらを合成した藻類細胞の窒素同位体比を復元することが可能である⁴¹⁻⁴³⁾。この情報は、藻類が環境中から窒素を同化するプロセスに関わる情報を与えてくれる。

窒素は、海洋表層において生物生産を律速する重要な元素であるため、現在の海洋における窒素サイクルとそれにとまう安定同位体比の変化は詳しく研究さ

れてきた⁴⁴⁾。それに対して過去の海洋における窒素のサイクルの復元については、これまで研究の良い方法論がなく、あまり研究が進んでこなかった経緯がある⁴⁵⁾。したがって現在、ポルフィリンの窒素同位体比は、古海洋の窒素サイクルを知るうえで重要な証拠として採用されている。

5. ポルフィリンを用いた古環境解析

最初にも述べたとおり、地質試料中から見出されるポルフィリンは、指標性が強いことから優れた「バイオマーカー」とみなされてきた。ポルフィリンを古環境解析のための「バイオマーカー」として用いる長所は以下の7点に集約できる。すなわち、

1. その組成から当時の光合成生物群がある程度推定できる
2. ポルフィリンの起源化合物であるクロロフィルやヘムについては、合成・代謝・機能など様々な側面に関して深く研究されてきたため、基礎情報がそろっている
3. 窒素を含んでいるため、炭素だけでなく窒素サイクルの情報も得られる
4. 起源化合物であるクロロフィルやヘムは、北極から南極まで広く分布している
5. 地球史の比較的早い時期から現在に至るまで合成され続けてきた
6. 熱分解や微生物分解を受けにくく、地層中に長らく保存される
7. 堆積後に付加される可能性が低い

ただし、堆積岩など地質学的試料中に含まれるポルフィリンは、多様な形態で堆積物中に存在しているので注意が必要である。すなわち、遊離体として存在するものもあれば、エステル、エーテル、硫黄原子で架橋する形でケロジェン（堆積物中で形成される不溶性巨大分子）と化学結合しているものもある^{46,47)}。したがって、単純に有機溶媒で抽出されるものが全てを代表していない可能性があることについても注意を払う必要がある。

ポルフィリンを用いて古環境を推定する研究は、堆積物に含まれるポルフィリン研究の一つの終着点である。ここでは、筆者らが行った白亜紀の黒色頁岩の分析結果を研究例として解説することにしよう。これまで行われてきた数多くの地質試料中におけるポルフィリン研究の中で、もっとも詳細に研究されたもの



図7 イタリア中部に産する「リペロ・ボナレリ」と呼ばれる有機物に富んだ黒色頁岩（中央左下から右上にかけて見られる厚さ1mほどの地層）

白亜紀中期の約9400万年前に形成された。場所によっては非常に厚く堆積しており、石油の根源岩となっている。

であり、特にその炭素・窒素安定同位体比を詳細に測定して考察した初めてのものである。

白亜紀には断続的に、「黒色頁岩」と呼ばれる有機物に非常に富んだ堆積岩が世界的に分布している⁴⁸⁾。その有機炭素濃度は、多いものでは50%を超えるものもあり、1億年以上にわたってこのように大量の有機物が無機化されずに残されていること自体驚くべきことである。現代文明を支える石油は、この時代に堆積した有機物が地下深くに埋没され、熱による変性を受けて形成されたものである。したがって、石油の根源岩である黒色頁岩の形成プロセスは、地質学者の間で長らく議論されてきた^{49,50)}。一般に、汎世界的に黒色頁岩が形成された地質学的な現象は「海洋無酸素事変 (OAE: Oceanic Anoxic Event)」と呼ばれている。この用語が示すとおり、海洋の熱塩循環が止まり

深層水が淀んで無酸素状態になったため、有機物の分解速度が低下し、有機物に富んだ堆積物が形成されたという考え方が広く信じられてきた。

筆者らは、海洋の物理的・化学的環境が変化した以上に海洋表層の生態系が大きく変わったことが本質的に重要であるに違いないと考え、この特殊な堆積岩の形成過程の研究に取り組んできた^{51,52)}。そこで、黒色頁岩中に含まれるポルフィリンを分析し、その情報から当時の海洋の一次生産者について考察した。ここでは、その成果について簡単にまとめてみたい^{41,42)}。

用いた堆積岩試料は、イタリア、アペニン山脈中に分布している「リペロ・ボナレリ」と呼ばれる黒色頁岩である(図7)。1 m ほどの厚さをもつ地層であるが、その中に含まれる有機炭素の濃度は最大26%に達する⁵³⁾。図8には、Niポルフィリン画分的高速液体クロマトグラムを示した⁵⁴⁾。その中には主なものだけでも20を超える多様なポルフィリンが含まれていることがわかる。個々の化合物の構造決定は、高速液体クロマトグラフィーの溶出物の分取を繰り返すことにより、個々のピークをまず単離・精製した後、NMRを用いて行った^{42,54)}。

1990年代初頭まで、ポルフィリンの炭素および窒素安定同位体比は、個々のポルフィリンを単離・精製した後、封管法により燃焼して二酸化炭素、窒素、水としてガス化した後、デュアルインレット方式による安定同位体質量分析計に導入され測定されていた^{55,56)}。しかし実験操作の煩雑さに加えて、大量のポルフィリン試料を必要とするため、その測定例は限られていた。その後、より簡便かつ微量分析が可能な元素分析計/同位体質量分析計 (EA/IRMS: Elemental Analyzer /

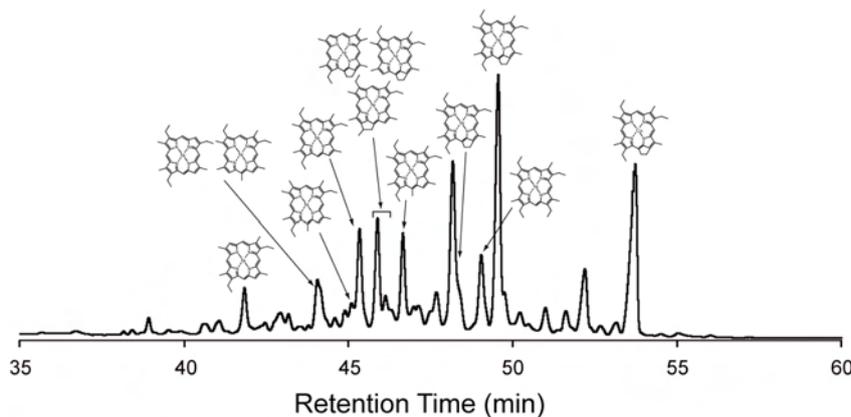


図8 白亜紀の黒色頁岩中から抽出された成分のうち、VOポルフィリンを含む画分的高速液体クロマトグラム

Isotope Ratio Mass Spectrometry)

が開発・市販されたが、それでも精密な炭素同位体比測定の場合およそ 50 μg、窒素同位体比測定の場合およそ 300 μg もの単離されたポルフィリンが必要となる。したがって、市販の EA / IRMSを用いてポルフィリンの炭素および窒素安定同位体比を測定しようとする、ポルフィリンがかなり多量に含まれている堆積岩であっても、数 kgあるいはそれ以上という大量の試料を

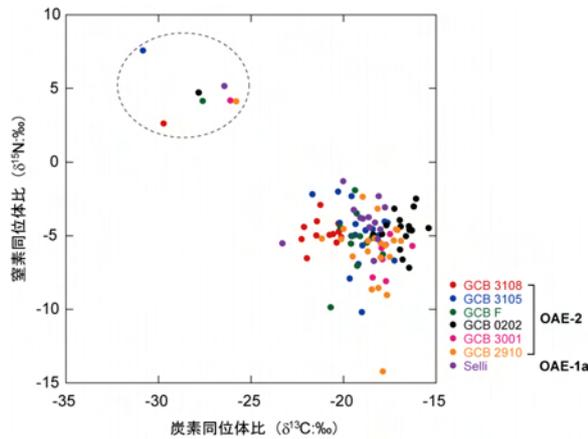


図9 白亜紀の黒色頁岩中から単離・精製された各種ポルフィリンの炭素および窒素安定同位体比

色の違いは試料の違いを表している。点線で囲った試料は、すべてetioporphyrinである。

抽出しなければならない。このことが足かせとなって、ポルフィリンの安定同位体の研究は、遅々として進まなかった。筆者らのグループではEA/IRMSを改造し、必要試料量を2桁以上減らしてスケールダウンに成功し、それによって、多数の堆積岩試料にこの分析法を応用することを実質的に可能にした⁵⁷⁾。

図9は、白亜紀の黒色頁岩から単離・精製された各種ポルフィリンの炭素および窒素同位体比の測定結果を示したものである。多くのポルフィリンは、炭素同位体比が $-18 \pm 3\text{‰}$ 、窒素同位体比が $-5 \pm 3\text{‰}$ という値をもっている。詳しいことは省略するが、このポルフィリンの窒素同位体比は窒素固定によって同化されたことを示唆し、当時の光合成生物が窒素固定経路を通して窒素を（直接的あるいは間接的に）同化していたことを強く示唆している。さらに、この黒色頁岩中からはDPEPが多量に見出されたことから、クロロフィルaをもちなおかつ窒素固定能をもつシアノバクテリアが主たる光合成生物であったと解釈した^{41,42)}。

興味深いことに、etioporphyrin III (ETIO)の安定同位体比だけが、他のポルフィリンの安定同位体比と大きく異なる値をもっている（図9）。すなわち、平均すると他のポルフィリンより9‰ほど高く（¹⁵Nに富み）、また炭素の同位体比は平均すると10‰近く低い（¹³Cに乏しい）。このことは、ETIOだけが他のポルフィリンとは起源が異なることを示している。詳細については省くが、従属栄養生物を起源とする生体物質の窒素同位体比は光合成生物よりも高いため^{28,58)}、動物起源のものも含むヘム起源のポルフィリン

はクロロフィル起源のポルフィリンに比べ高い窒素同位体比をもっていると予想される。したがって窒素同位体比の結果は、当初 Treibs が指摘したように、この黒色頁岩中に含まれるETIOがヘム起源であることを示唆する結果である。従来の研究では、DPEPからETIOへの分解経路が存在し、地質学的試料中に見出される多くのETIOがこの経路で生成されている可能性が指摘されてきた⁵⁹⁾。これは主として、天然中で合成されるヘムの量はクロロフィルの量に比べて5桁少ないのに対し、地質学的試料中から見出されるETIOの濃度がDPEPの濃度に比べて比較的大きい（1桁程度しか低くない）ことを説明するために提唱された分解経路である。今回、私たちが分析した白亜紀の堆積岩中から見出されるETIOの濃度も、DPEPの濃度より1桁低い程度である。しかし筆者らの安定同位体比の測定結果は、ETIOの多くがヘム起源であることを強く示唆しており、堆積岩中にETIOが比較的多量に含まれる原因は、DPEP→ETIOの変質が起きているからではなく、堆積物中におけるヘムの分解速度がクロロフィルに比べて遅いことに起因していると思われることができる。

地質試料中のポルフィリンの窒素と炭素の安定同位体比が詳細に測定された例は、現時点でこの白亜紀の黒色頁岩と、日本で採れる石油の根源岩である中新世女川層の2例しかない⁴³⁾。今後このような測定例が増えていくことにより、個々の時代の海洋表層の環境復元に役立っていくだろう。筆者らのグループでは、現在先カンブリア代の堆積岩中に残されたポルフィリンについても研究を開始している。実際、20数億年前の堆積岩からも微量のポルフィリンを見出すことができ、その寿命の長さには驚かされる。こういった研究の先に光合成の進化や、それと地球環境の進化とのつながりが浮かび上がってくることを筆者らは期待している。

6. おわりに

本稿で概説したように、クロロフィルの分解生成物であるポルフィリンの組成やその安定同位体比は、断片的にしか残されていない証拠をもとに過去の地球環境を復元するうえで、貴重な情報をもたらしてくれる。とはいえ、過去の地球環境を復元する地質学的方法論に完全なものではなく、本稿で解説したポルフィリンも決してその例外ではない。読者も気付かれたこ

と思うが、ポルフィリンを過去の光合成生物の分布や海洋表層環境を理解するツールとして応用するには、まだ数多くの不明な点や問題点を抱えている。しかしながら、地質時代における光合成生物という生命圏エネルギーの入口情報を得るツールとしては、現時点でポルフィリンの右に出るものがないのも事実である。

堆積物中に含まれるポルフィリンは、続成作用（堆積物中における分解作用）に極めて強い化合物ではあるが、それとでも、非常にゆっくりと時間とともにより小さな分子に分解していく。ポルフィリンといえども、あくまでも中間生成物にすぎないわけである。ポルフィリンがさらに分解する際、各メチン橋（-CH=）が開裂してマレイミド（maleimide）と呼ばれる化合物が生成される。マレイミドは、その起源であるポルフィリンのアルキル鎖や窒素安定同位体比の情報を保持しているため、地球科学的な研究に役立つと考えられている^{60,61}。たとえば、バクテリオクロロフィルc, d, eのC8位の特徴的なアルキル基は、そのままマレイミドのアルキル基として保存される。したがって、こういったプロピル基、イソブチル基、ネオペンチル基をもつマレイミドの存在は、当時そこにバクテリオクロロフィルc, d, eを合成した絶対嫌気性光合成細菌が存在していたことを示すものである。このことは、海洋表層の有光層部に還元環境が存在したことを示唆するものであり、大気中に酸素の蓄積の歴史を考えるうえで重要な制約条件となる可能性がある。さらに筆者らの研究によると、ポルフィリンが熱的にマレイミドに分解されるプロセスでは炭素同位体比の分別が起きないため、その炭素同位体比の情報も今後古環境情報として有用活用されることになるだろう。

先に解説したポルフィリンの分子内炭素同位体比情報（アイソトポマー）も、非常に高度な分析法を必要とするとはいえ、今後分析技術の進展とともに新たな視点を提供してくれるだろう。ポルフィリン分子の中に刻まれている生化学プロセスの情報を引き出し、古生物の生理生態に深く踏み込んだ知見が得られるに違いない。クロロフィルとその分解生成物であるポルフィリンを通して覗く地球の歴史に興味は尽きない。

謝辞

海洋研究開発機構の小川奈々子氏と力石嘉人氏は、筆者らの研究グループにおけるポルフィリンやその分

解生成物の安定同位体比の測定法の開発で成果を挙げ、またその結果の解釈について助言をいただいた。さらに、高野淑識氏、菅寿美氏には、実験に関して数多くのコメントとサポートをいただいた。筑波大学の野本信也教授にはポルフィリンの構造決定とマレイミドの標品合成について、また(株)リガクの城始勇氏には単結晶X線回折分析とその結果の解釈についてご教示いただいた。また東京大学の増田建准教授には本誌に出版の機会を、匿名の査読者には内容についてコメントをいただいた。以上の方々に深くお礼申し上げます。本研究は、海洋研究開発機構の運営費交付金を用いてなされたものである。

Received November 16, 2009, Accepted December 2, 2009,
Published December 31, 2009

参考文献

- Hendry, G. A. F., Houghton, J. D., and Brown, S. B. (1987) The degradation of chlorophyll - A biological enigma, *New Phytol.* 107, 255-302.
- Treibs, A. (1934) Chlorophyll- und Haminderivate in bituminösen Gesteinen, Erdölen, Erwachsen und Asphalten, *Ann. Chem.* 510, 42-62.
- Treibs, A. (1936) Chlorophyll- und Haminderivate in organischen Mineralstoffen, *Angew. Chem.* 48, 682-686.
- Baker, E. R., and Palmer, S. E. (1978) Geochemistry of Porphyrins, in *The Porphyrins*, Vol. 1 (Dolphin, D., Ed.) pp 486-552, Academic Press, New York, USA.
- Baker E. R., and Louda, J. W. (1986) Porphyrins in the geological record, in *Biological Markers in the Sedimentary Record* (Johns, R. B., Ed.) pp 125-225, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Callot, H. J. (1991) Geochemistry of chlorophylls, in *Chlorophylls* (Scheer, H., Ed.) pp 339-364, CRC Press, Boca Raton, USA.
- Callot, H. J., and Ocampo, R. (2000) Geochemistry of porphyrins, in *The Porphyrin Handbook Vol. 1* (Kadish, K. M. et al., Eds.) pp 349-398, Academic Press, New York, USA.
- Baker, E. W., and Louda, J. W. (2002) The legacy of the Treibs' samples, in *Alfred Treibs Memorial Volume: The Treibs-porphyrin concept after 65 years* (Prashnowsky, A. A., Ed.) pp 3-128, Gesamtherstellung, Germany.
- Keely, B. J. (2006) Geochemistry of chlorophylls, in *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications* (Grimm, B. et al., Ed.) pp 535-561, Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Freeman, D. H. (1990) ACS symposium on porphyrin geochemistry - The quest for analytical reliability, *Energy & Fuels* 4, 627.

11. Baker, E. R., Corwin, A. H., Klesper, E., and Wei, P. E. (1968) Deoxophylloerythroetioporphyrin, *J. Org. Chem.* 33, 3144-3148.
12. Bonnett, R., Burke, P. J., and Reszka, A. (1983) Iron porphyrins in coal, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1983, 1085-1087.
13. Bonnett, R., and Czechowski, F. (1980) Gallium porphyrins in bituminous coal, *Nature* 283, 465-467.
14. Bonnett, R., and Czechowski, F. (1981) Metals and metal complexes in coal, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A* 300, 51-63.
15. Junium, C. K., Mawson, D. H., Arthur, M. A., Freeman, K. H., and Keely, B. J. (2008) Unexpected occurrence and significance of zinc alkyl porphyrins in Cenomanian-Turonian black shale of the Demerara Rise, *Org. Geochem.* 39, 1081-1087.
16. Buchler, J. W. (1978) Synthesis and properties of metalloporphyrins, in *The Porphyrins, Vol. 1* (Dolphin, D., Ed.) pp 389-483, Academic Press, New York, USA.
17. Manning, D. A. C., and Gize, A. P. (1993) The role of organic matter in ore transport processes, in *Organic Geochemistry – Principles and Applications, Chap. 25* (Engel, M. H., and Macko, M. A., Eds.) pp 547-563, Plenum Press, New York, USA.
18. Lewan, M. D. (1984) Factors controlling the proportionality of vanadium to nickel in crude oils, *Geochim. Cosmochim. Acta* 48, 2231-2238.
19. Rosell-Mele, A., Carter, J. F., and Maxwell, J. R. (1996) High-performance liquid chromatography-mass spectrometry of porphyrins by using an atmospheric pressure interface, *Am Assoc. Mass Spectr.* 7, 965-971.
20. Mawson, D. H., Walker, J. S., and Keely, B. J. (2004) Variations in the distributions of sedimentary alkyl porphyrins in the Mulhouse basin in response to changing environmental conditions, *Org. Geochem.* 35, 1229-1241.
21. Miller, S. A., Hambley, T. W., and Taylor, J. C. (1984) Crystal and molecular structure of a natural vanadyl porphyrin, *Aus. J. Chem.* 37, 761-766.
22. Boreham, C. J., Clezy, P. S., and Robertson, G. B. (1990) Diastereoisomers in sedimentary vanadyl porphyrins, *Energy & Fuels* 4, 661-664.
23. Kashiya, Y., Shiro, M., Tada, R., and Ohkouchi, N. (2007) A novel vanadyl alkylporphyrins from geological samples: a possible derivative of divinylchlorophylls or bacteriochlorophyll *a*? *Chem. Lett.* 36, 706-707.
24. Eckardt, C. B., Keely, B. J., Waring, B. J., Chicarelli, M. I., and Maxwell, J. R. (1991) Preservation of chlorophyll-derived pigments in sedimentary organic matter, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 333, 339-348.
25. Keely, B. J., Prowse, W. G., and Maxwell, J. R. (1990) The Treibs hypothesis: An evaluation based on structural studies, *Energy & Fuels* 4, 628-634.
26. Harris, P. G., Carter, J. F., Head, R. N., Harris, R. P., Eglinton, G., and Maxwell, J. R. (1995) Identification of chlorophyll transformation products in zooplankton faecal pellets and marine sediment extracts by liquid chromatography/mass spectrometry atmospheric pressure chemical ionization, *Rapid Comm. Mass Spectr.* 9, 1177-1183.
27. Matile, P., Hortensteiner, S., Thomas, H., and Krautler, B. (1996) Chlorophyll breakdown in senescent leaves, *Plant Physiol.* 112, 1403-1409.
28. Chikaraishi, Y., Kashiya, Y., Ogawa, N. O., Kitazato, H., and Ohkouchi, N. (2007) Metabolic control of nitrogen isotopic composition of amino acids in macroalgae and gastropods: implications for aquatic food web studies, *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 342, 85-90.
29. Keely, B. J., Harris, P. G., Popp, B. N., Hayes, J. M., Meischner, D., and Maxwell, J. R. (1994) Porphyrin and chlorine distributions in a Late Pleistocene sediment, *Geochim. Cosmochim. Acta* 58, 3691-3701.
30. Ohkouchi, N., Nakajima, Y., Okada, H., and Kitazato, H. (2005) Copper-chelated bacteriochlorophyll *e* homologues in sediment from an anoxic lake (Lake Abashiri, Japan), *Org. Geochem.* 36, 1576-1580.
31. Dinello, R., and Dolphin, D. H. (1981) Evidence for a fast (major) and slow (minor) pathway in the Schumm devinylation reaction of vinyl porphyrins, *J. Org. Chem.* 46, 3498-3502.
32. Kozono, M., Nomoto, S., and Shimoyama, A. (2002) The first experimental simulation of thermal transformation of chlorophylls into benzoporphyrins in sediments, *Chem. Lett.* 2002, 470-471.
33. Chicarelli, M. I. and Maxwell, J. R. (1986) A novel fossil porphyrin with a fused ring system: Evidence for water column transformation of chlorophyll? *Tetrahedron Lett.* 27, 4653-4654.
34. Callot, H. J., Ocampo, R., and Albrecht, P. (1990) Sedimentary porphyrins: Correlations with biological precursors, *Energy & Fuels* 4, 635-639.
35. Fookes, C. J. R. (1983) Identification of a homologous series of nickel (II) 15,17-butanoporphyrins from oil shale, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1983, 1474-1476.
36. Ohkouchi, N., Nakajima, Y., Ogawa, N. O., Suga, H., Sakai, S., and Kitazato, H. (2008) Carbon isotopic composition of tetrapyrrole nucleus in chloropigments from a saline meromictic lake: A mechanistic view for interpreting isotopic signature of alkyl porphyrins in geological samples, *Org. Geochem.* 39, 521-531.
37. Ohkouchi, N., Chikaraishi, Y., Kashiya, Y., Ogawa, N. O. (2009) Isotopomers of chlorophyll nuclei: Theories and an application, in *Earth, Life and Isotopes* (Ohkouchi, N. et al., Eds.) in press, Kyoto University Press, Kyoto, Japan.
38. Mook, W. G., Bommerson, J. C., and Staverman, W. H. (1974) Carbon isotope fractionation between dissolved bicarbonate and gaseous carbon dioxide, *Earth Planet. Sci. Lett.* 22, 169-176.
39. Mau, Y.-H.L. and Wang, W.-Y. (1988) Biosynthesis of δ -aminolevulinic acid in *Chlamydomonas reinhardtii*: study of the transamination mechanism using specifically labeled glutamate, *Plant Physiol.* 86, 793-797.

40. Sachs, J. P., Repeta, D. J., and Goericke, R. (1999) Nitrogen and carbon isotopic ratios of chlorophyll from marine phytoplankton, *Geochim. Cosmochim. Acta* 65, 1431-1441.
41. Ohkouchi, N., Kashiyama, Y., Kuroda, J., Ogawa, N. O., and Kitazato, H. (2006) The importance of diazotrophic cyanobacteria as primary producers during Cretaceous Oceanic Anoxic Event 2, *Biogeosciences* 3, 467-478.
42. Kashiyama, Y., Ogawa, N. O., Kuroda, J., Kitazato, H., and Ohkouchi, N. (2008a) Diazotrophic cyanobacteria as the major photoautotrophs during mid-Cretaceous Oceanic Anoxic Events: Nitrogen and carbon isotopic evidence from sedimentary porphyrin, *Org. Geochem.* 39, 532-549.
43. Kashiyama, Y., Ogawa, N. O., Tada, R., Kitazato, H., and Ohkouchi, N. (2008b) Reconstruction of biogeochemistry and ecology of photoautotrophs based on the nitrogen and carbon isotopic compositions of vanadyl porphyrins from Miocene siliceous sediments, *Biogeosciences* 5, 797-816.
44. Wada, E., and Hattori, A. (1991) *Nitrogen in the Sea: Forms, Abundances, and Rate Processes*, CRC Press, Boca Raton, USA.
45. 大河内直彦 (2009) 古海洋の窒素サイクル：クロロフィルの窒素同位体比を用いた方法論について、月刊海洋、印刷中
46. Huseby, B. and Ocampo, R. (1997) Evidence for porphyrins bound, via ester bonds, to the Messel oil shale kerogen by selective chemical degradation experiments, *Geochim. Cosmochim. Acta* 61, 3951-3955.
47. Schaeffer, P., Ocampo, R., Callot, H., and Albrecht, P. (1993) Extraction of bound porphyrins from sulfur-rich sediments and their use for reconstruction of palaeoenvironments, *Nature* 364, 133-136.
48. Kuroda, J., and Ohkouchi, N. (2006) Implications of spatiotemporal distribution of black shales during Cretaceous Oceanic Anoxic Event-2, *Paleontol. Res.* 10, 345-358.
49. Schlanger, S. O., and Jenkyns, H. C. (1976) Cretaceous oceanic anoxic events – causes and consequences, *Geol. Mijnbouw* 55, 179-184.
50. 大河内直彦 (2003) 化石分子とその同位体の組成からみた白亜紀黒色頁岩の成因、化石74, 48-56.
51. Ohkouchi, N., Kawamura, K., and Taira, A. (1997) High abundances of hopanols and hopanoic acids in Cretaceous black shales, *Ancient Biomol.* 1, 183-192.
52. Kuroda, J., Ohkouchi, N., Ishii, T., Tokuyama, H., and Taira, A. (2005) Lamina-scale variations in sedimentary components in Cretaceous black shales by chemical compositional mapping: Implications for paleoenvironmental changes during Oceanic Anoxic Events, *Geochim. Cosmochim. Acta* 69, 1479-1494.
53. Kuroda, J., Ogawa, N. O., Tanimizu, M., Coffin, M. F., Tokuyama, H., Kitazato, H., and Ohkouchi, N. (2007) Massive volcanism as a causal mechanism for a Cretaceous oceanic anoxic event, *Earth Planet. Sci. Lett.* 256, 211-223.
54. Kashiyama, Y., Ogawa, N. O., Kitazato, H., and Ohkouchi, N. (2009) Nitrogen and carbon isotopic compositions of copper, nickel, and vanadyl porphyrins from the Cretaceous OAE black shales, in *Earth, Life and Isotopes* (Ohkouchi, N. et al., Eds.) in press, Kyoto University Press, Kyoto, Japan.
55. Hayes, J. M., Takigiku, R., Ocampo, R., Callot, H. J., and Albrecht, P. (1987) Isotopic compositions and probable origins of organic molecules in the Eocene Messel shales, *Nature* 329, 48-51.
56. Chicarelli, M. I., Hayes, J. M., Popp, B. N., Eckardt, C. B., and Maxwell, J. R. (1993) Carbon and nitrogen isotopic compositions of alkyl porphyrins from the Triassic Serpiano oil shale, *Geochim. Cosmochim. Acta* 57, 1307-1311.
57. Ogawa, N. O., Nagata, T., Kitazato, H., and Ohkouchi, N. (2009) Ultra sensitive elemental analyzer/isotope ratio mass spectrometer for stable nitrogen and carbon isotope analyses, in *Earth, Life and Isotopes* (Ohkouchi, N. et al., Eds.) in press, Kyoto University Press, Kyoto, Japan.
58. Minagawa, M. and Wada, E. (1984) Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age, *Geochim. Cosmochim. Acta* 48, 1135-1140.
59. Corwin, A. H. (1960) Petroporphyrins. in *5th World Petroleum Congress New York, paper no. 5*, pp 119-129.
60. Grice, K., Gibbison, R., Atkinson, J.E., Schwark, L., Eckardt, C.B., and Maxwell, J.R. (1996) Maleimides (1H-pyrrole-2,5-diones) as molecular indicators of anoxygenic photosynthesis in ancient water columns, *Geochim. Cosmochim. Acta* 60, 3913-3924.
61. Chikaraishi, Y., Kashiyama, Y., Ogawa, N. O., Kitazato, H., Satoh, M., Nomoto, S., and Ohkouchi, N. (2008) A compound-specific isotope method for measuring the stable nitrogen isotopic composition of tetrapyrroles, *Org. Geochem.* 39, 510-520.

Geochemistry of Porphyrins as Molecular Markers of Chlorophylls

Naohiko Ohkouchi* and Yuichiro Kashiyama

Institute of Biogeosciences

Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology

報告記事

若手の会第一回セミナー『みんなで光合成研究』開催と
『若手の会』立ち上げの報告

成川 礼 (東京大学大学院総合文化研究科)

10月17～18日にかけて、若手の会第一回セミナー『みんなで光合成研究』を東京大学本郷キャンパスにて開催しました。ポスドク、博士課程の学生を中心に30名の参加がありました。初日は、参加者全員による自己・研究紹介を行い、その後、宿舎である旅館にて懇親会を行いました。自己・研究紹介は予定を超過するほどディスカッションが大いに盛り上がりました。その流れは懇親会でも続き、深夜(朝)まで研究やその他の話題で話が尽きませんでした。二日目は、4人の講師の方々にセミナーを行っていただきました。原田二郎先生には、光合成細菌の分類から最新研究の動向まで、鈴木博行先生には、酸素発生に対するFTIRを用いたアプローチを分かりやすく、本橋建先生には、葉緑体におけるチオレドキシンを介したレドックス応答の詳細をそれぞれ解説いただきました。最後に伊藤繁先生には、こちらからの「光合成研究の昔・今・これから」というタイトルで、という勝手なお願いに対して、日本の光合成研究者の系統樹を作ってくださいました。また、伊藤先生の最新の研究紹介から、思想・哲学に至るまで、熱く語っていただきました。特に学生に対する良い刺激になったと思います。様子はHPに掲載しています。参加者の方へのアンケート結果は、概ね好評であり企画者として安堵しています。また、いただいた様々な意見・助言は今後の改善の参考にさせていただきます。今回、理学部二号館の部屋を快く貸していただき、当日もお手伝いいただいた野口航・寺島一郎両先生と事前準備から当日の雑用までお手伝いいただいた、池内研の学生の皆様に感謝いたします。

今回のセミナーにおいて参加者に承認して頂いたことで、『若手の会』が発足いたしました。成川を会長として、大西紀和さん(岡山大)、岡島公司さん(大阪府大)、鈴木博行さん(筑波大)、原田二郎さん(久留米大)に幹事を務めていただくことになりました。今後、年1-2回のセミナーの開催とホームページやメーリングリストによって、研究者間コミュニケーションの充実を図っていく予定です。『若手の会』は参加者自らが作り変革していけるように、もっと幅広い研究分野の集団にしていきたいと考えています。そのためにも、より多くの若手研究者が参加してくれることを期待しています。若手の会の今後の運営にあたり、会員の先生方のご協力等をいただけましたら幸いです。

光合成若手の会第一回セミナー『みんなで光合成研究』に参加して

川上 恵典（岡山大学・沈研究室）

今年から光合成研究会が光合成学会となり、学生や若手の研究者の方々がもっと積極的にディスカッションをしていくために「光合成学会若手の会」を立ち上げられたということで、その第一回セミナーに参加しました。

セミナーでは参加者全員の自己紹介・研究紹介が行われ、発表者の方々が、自分が行っている研究の何に魅力を感じ、何を知りたくて研究をしているのかが伝わってきて、非常に良かったと思います。私自身は光化学系IIの構造の詳細を解明したく、日々研究を行っていますが、その他の光合成の研究を行っている方々と直接お話できる良い機会となりました。また、配られた要旨集にはそれぞれの研究や自己PRが楽しく紹介されており、普段のセミナーにはないユーモアさがあって、このセミナーをより一層楽しいものにしてくれたと思います。

今後もこの光合成学会若手の会で、お互いの研究の魅力を伝え合い、それぞれの研究の情報交換・ディスカッションを盛んに行っていきたいと強く感じました。



セミナーの集合写真。三重大の加藤浩さんに撮影いただきました。

集会案内

15th International Congress of Photosynthesis Beijing, China, August 22-27, 2010

<http://www.psbj2010.com/>

2010年に北京で開催される第15回国際光合成会議の案内の続報です。詳しくは上記のWebサイトをご確認下さい。

Second circular	http://www.psbj2010.com/infopic/20091023192545812.pdf
Abstract submission	1st November 2009 ~ 30th April 2010
Early registration	1st November 2009 ~ 10th May 2010
Registration	After 10th May 2010 ~

第10回 日本光合成学会公開シンポジウム開催予告

2010年6月4, 5日

東京大学数理科学研究棟大講義室 (駒場キャンパスI)

オーガナイザー: 西田生郎 (埼玉大)、小林正美 (筑波大)

GCOE 「地球から地球たちへ」

シンポジウム 「光合成と地球の進化」の案内

2010年1月23日午後、東京大学駒場キャンパスにおきまして、国際シンポジウムを開催します。このシンポジウムは、今年度より始まったGCOE「地球から地球たちへ」のプログラムの積極的な公開を目指すもので、Plenary Speakerとして著名な古生物学者であるSteven M. Stanley教授(ハワイ大学)と珪藻のゲノム解析などで顕著な業績をあげられているChris Bowler博士(フランスCNRS)をお招きして、光合成と地球の進化について議論したいと考えています。詳細が決まり次第、電子メール、ホームページによりお知らせいたします。

期日 平成22年1月23日(土) 午後

場所 東京大学数理科学研究棟大講義室(駒場キャンパスI)

問い合わせ先 池内昌彦 (mikeuchi@bio.e.u-tokyo.ac.jp)

新刊図書

Chlorophyll a Fluorescence A Signature of Photosynthesis

Series: Advances in Photosynthesis and Respiration , Vol. 19
Papageorgiou, George C.; Govindjee (Eds.)
2010, XXXII, 820 p. 8 illus., Softcover
ISBN: 978-90-481-3882-1

Due: December 7, 2009

The Purple Phototrophic Bacteria

Series: Advances in Photosynthesis and Respiration , Vol. 28
Hunter, C.N.; Daldal, F.; Thurnauer, M.C.; Beatty, J.Th. (Eds.)
2009, LIV, 1014 p., Hardcover
ISBN: 978-1-4020-8814-8

The Chloroplast Basics and Applications

Series: Advances in Photosynthesis and Respiration , Vol. 31
Rebeiz, C.A.; Benning, C.; Bohnert, H.J.; Daniell, H.; Hooper, J.K.; Lichtenthaler, H.K.;
Portis, A.R.; Tripathy, B.C. (Eds.)
2010, Approx. 500 p., Hardcover
ISBN: 978-90-481-8530-6

事務局からのお知らせ

★入会案内

本会へ入会を希望される方は、会費（個人会員年会費：¥1,500、賛助法人会員年会費：¥50,000）を郵便振替（加入者名：日本光合成学会、口座番号：00140-3-730290）にて送金の上、次ページの申し込み用紙、または電子メールにて、氏名、所属、住所、電話番号、ファックス番号、電子メールアドレス、入会希望年を事務局までお知らせください。

★会費納入のお願い

会費が未納の場合、未納印とともにお手元の封筒の宛名シールの下に、会費未納の年が印字されています。ご確認の上、会費納入にご協力をお願いいたします。納められた会費は、古い未納年から順に充当させていただきます。会費納入状況などにつきましては、ご遠慮なく事務局（shikanai@pmg.bot.kyoto-u.ac.jp）までお問い合わせください。会員の皆様のご理解とご協力をお願い申し上げます。

日本光合成学会会員入会申込書

平成 年 月 日

日本光合成学会御中

私は日本光合成学会の趣旨に賛同し、平成 年より会員として入会を申し込みます。

[]内に会員名簿上での公開承諾項目に○印をつけてください

[] 氏名（漢字）（必須）

氏名（ひらがな）

氏名（ローマ字）

[] 所属

[] 住所1

〒

[] 住所2（自宅の方または会誌送付先が所属と異なる場合にのみ記入）

〒

[] TEL1

[] TEL2（必要な方のみ記入）

[] FAX

[] E-mail

個人会員年会費 1,500円（会誌、研究会、ワークショップなどの案内を含む）

賛助法人会員年会費 50,000円（上記と会誌への広告料を含む）

（振込予定日：平成 年 月 日）（会員資格は1月1日～12月31日を単位とします）

*複数年分の会費を先払いで振り込むことも可能です。その場合、通信欄に（何年度～何年度分）とお書き下さい。

連絡先

〒153-8902 東京都目黒区駒場3-8-1

東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系

池内・成川研究室内 日本光合成学会

TEL: 03-5454-6641, FAX: 03-5454-4337

E-mail: photosyn@bio.c.u-tokyo.ac.jp

ホームページ: <http://photosyn.c.u-tokyo.ac.jp>

郵便振替口座 加入者名：日本光合成学会 口座番号：00140-3-730290

日本光合成学会会則

第1条 名称

本会は日本光合成学会（The Japanese Society of Photosynthesis Research）と称する。

第2条 目的

本会は光合成の基礎および応用分野の研究発展を促進し、研究者相互の交流を深めることを目的とする。

第3条 事業

本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催などの事業を行う。

第4条 会員

1. 定義

本会の目的に賛同する個人は、登録手続を経て会員になることができる。また、団体、機関は、賛助会員になることができる。

2. 権利

会員および賛助会員は、本会の通信および刊行物の配布を受けること、本会の主催する行事に参加することができる。会員は、会長を選挙すること、役員に選出されることことができる。

3. 会費

会員および賛助会員は本会の定めた年会費を納めなければならない。

第5条 組織および運営

1. 役員

本会の運営のため、役員として会長1名、事務局長1名、会計監査1名、常任幹事若干名をおく。役員任期は2年とする。会長、常任幹事は連続して二期を越えて再任されない。事務局長は五期を越えて再任されない。会計監査は再任されない。

2. 幹事

幹事数名をおく。幹事任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

3. 常任幹事会

常任幹事会は会長と常任幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。常任幹事会は本会の運営に係わる事項を審議し、これを幹事会に提案する。事務局長と会計監査は、オブザーバーとして常任幹事会に出席することができる。

4. 幹事会

幹事会は役員と幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。幹事会は、常任幹事会が提案した本会の運営に係わる事項等を審議し、これを決定する。

5. 事務局

事務局をおき、事務局長がこれを運営する。事務局は、本会の会計事務および名簿管理を行う。

6. 役員および幹事の選出

会長は会員の直接選挙により会員から選出される。事務局長、会計監査、常任幹事は会長が幹事の中から指名し、委嘱する。幹事は常任幹事会によって推薦され、幹事会で決定され

る。会員は幹事を常任幹事会に推薦することができる。

第6条 総会

1. 総会は会長が招集し、出席会員をもって構成する。議長は出席会員から選出される。
2. 幹事会は総会において次の事項を報告する。
 - 1) 前回の総会以後に幹事会で議決した事項
 - 2) 前年度の事業経過
 - 3) 当年度および来年度の事業計画
3. 幹事会は総会において次の事項を報告あるいは提案し、承認を受ける。
 - 1) 会計に係わる事項
 - 2) 会則の変更
 - 3) その他の重要事項

第7条 会計

本会の会計年度は1月1日から12月31日までとする。当該年度の経理状況は、総会に報告され、その承認を受ける。経理は、会計監査によって監査される。本会の経費は、会費および寄付金による。

付則

- 第1 年会費は個人会員1,500円、賛助会員一口50,000円とする。
- 第2 本会則は、平成14年6月1日から施行する。
- 第3 本会則施行後第一期の会長、事務局長、常任幹事にはそれぞれ、第5条に定める規定にかかわらず、平成14年5月31日現在の会長、事務局担当幹事、幹事が再任する。本会則施行後第一期の役員および幹事の任期は、平成14年12月31日までとする。
- 第4 本会則の改正を平成21年6月1日から施行する。

日本光合成学会の運営に関する申し合わせ

1. 幹事会：

幹事は光合成及びその関連分野の研究を行うグループの主催者である等、日本の光合成研究の発展に顕著な貢献をしている研究者とする。任期は4年とするが、原則として再任されるものとする。
2. 事務局：

事務局長の任期は2年とするが、本会の運営を円滑に行うため、約5期（10年）を目途に再任されることが望ましい。
3. 次期会長：

会長の引き継ぎを円滑に行うため、次期会長の選挙は任期の1年前に行う。
4. 常任幹事会：

常任幹事会の運営を円滑におこなうため、次期会長は常任幹事となる。

幹事会名簿

- 浅田浩二 福山大学生命工学部
池内昌彦 東京大学大学院総合文化研究科
池上 勇 帝京大学薬学部
泉井 桂 近畿大学生物理工学部生物工学科
伊藤 繁 名古屋大学大学院理学系研究科
井上和仁 神奈川大学理学部
臼田秀明 帝京大学医学部
榎並 勲 東京理科大学理学部
大岡宏造 大阪大学大学院理学研究科
大杉 立 東京大学大学院農学生命科学研究科
太田啓之 東京工業大学
バイオ研究基盤支援総合センター
大政謙次 東京大学大学院農学生命科学研究科
小川健一 岡山県生物科学総合研究所
小野高明 茨城大学工学部生体分子機能工学科
小俣達男 名古屋大学大学院生命農学研究科
垣谷俊昭 名城大学理工学部教養教育/
総合学術研究科
金井龍二 埼玉大学 (名誉教授)
小池裕幸 中央大学理工学部
坂本 亘 岡山大学資源生物科学研究所
櫻井英博 早稲田大学 (名誉教授)
佐藤和彦 兵庫県立大学大学院生命理学研究科
佐藤公行 岡山大学 (名誉教授)
佐藤直樹 東京大学大学院総合文化研究科
佐藤文彦 京都大学大学院生命科学研究科
鹿内利治 京都大学大学院理学研究科
重岡 成 近畿大学農学部
島崎研一郎 九州大学大学院理学研究院
嶋田敬三 首都大学東京都市教養学部
沈 建仁 岡山大学大学院自然科学研究科
杉浦昌弘 名古屋市立大学
大学院システム自然科学研究科
杉田 護 名古屋大学遺伝子実験施設
杉山達夫 中部大学生命健康科学研究所
鈴木祥弘 神奈川大学理学部
- 園池公毅 東京大学大学院新領域創成科学研究科
高市真一 日本医科大学生物学教室
高橋裕一郎 岡山大学大学院自然科学研究科
田中 歩 北海道大学低温科学研究所
都筑幹夫 東京薬科大学生命科学部
寺島一郎 東京大学大学院理学系研究科
徳富(宮尾)光恵 農業生物資源研究所
光合成研究チーム
豊島喜則 関西学院大学理工学部
南後 守 名古屋工業大学応用化学科
西田生郎 埼玉大学大学院理工学研究科
野口 巧 筑波大学大学院数理物質科学研究科
長谷俊治 大阪大学蛋白質研究所
林 秀則 愛媛大学
無細胞生命科学工学研究センター
原登志彦 北海道大学低温科学研究所
彦坂幸毅 東北大学大学院生命科学研究科
久堀 徹 東京工業大学資源化学研究所
檜山哲夫 埼玉大学理学部 (名誉教授)
福澤秀哉 京都大学大学院生命科学研究科
藤田祐一 名古屋大学大学院生命農学研究科
前 忠彦 東北大学大学院農学研究科
牧野 周 東北大学大学院農学研究科
増田 建 東京大学大学院総合文化研究科
松浦克美 首都大学東京都市教養学部
三室 守 京都大学大学院地球環境学学
宮地重遠 海洋バイオテクノロジー研究所
村田紀夫 基礎生物学研究所
山本 泰 岡山大学大学院自然科学研究科
山谷知行 東北大学大学院農学研究科
横田明穂 奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科
和田 元 東京大学大学院総合文化研究科

編集後記

本会誌「光合成研究」の国会図書館への寄贈を始めるのにあたり、ISSN番号(1884-2852)を取得しました。これで「光合成研究」を国際的な雑誌データベース上で検索することが可能になります。またJSTの科学技術文献データベース JDreamII にも継続的に収録されることが決まりました。今後、公知の情報として「光合成研究」が会員以外の方にも広く利用されていくことを期待しています。さて、今号では初めての試みとして、解説特集「光合成研究 —化学からのアプローチ—」を企画し、会員以外の方々にも執筆をお願いしました。著者の方々には、分野外の研究者にも出来るだけ分かりやすく書いて欲しいとお願いしました。いずれ劣らずの力作ぞろいで、分かりやすくかつ読み応え十分の内容だと思いますが、いかがだったでしょうか？アイデア(体力?)が続けば、このような特集の企画を設けていきたいと思います。また会員の皆様からの積極的な記事の投稿もお待ちしております。

＜東京大学 増田 建＞

記事募集

日本光合成学会では、会誌に掲載する記事を会員の皆様より募集しています。募集する記事の項目は以下の通りです。

- トピックス：光合成及び関連分野での纏まりのよいトピックス的な記事。
- 解説：光合成に関連するテーマでの解説記事。
- 研究紹介：最近の研究結果の紹介。特に、若手、博士研究員の方々からの投稿を期待しています。
- 集会案内：研究会、セミナー等の案内。
- 求人：博士研究員、専門技術員等の募集記事。
- 新刊図書：光合成関係、または会員が執筆・編集した新刊図書の紹介。書評も歓迎いたします。

記事の掲載を希望される方は、会誌編集担当、増田 (ctmasuda@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp) まで御連絡下さい。

「光合成研究」編集委員会

編集担当 増田 建 (東京大学)
発行担当 和田 元 (東京大学)
編集委員 栗栖源嗣 (大阪大学)
編集委員 野口 航 (東京大学)
編集委員 増田真二 (東京工業大学)

日本光合成学会 2008-2009年役員

会長 池内昌彦 (東京大学)

事務局 鹿内利治 (京都大学)

常任幹事 沈 建仁 (岡山大学) (日本光生物学協会)
常任幹事 和田 元 (東京大学) (会誌担当)
常任幹事 増田 建 (東京大学) (会誌担当)
常任幹事 佐藤直樹 (東京大学) (ホームページ担当)
常任幹事 寺島一郎 (東京大学) (企画担当)
常任幹事 高市真一 (日本医科大学) (企画担当)
常任幹事 小川健一 (岡山県生物科学総合研究所) (企画担当)
常任幹事 西田生郎 (埼玉大学) (企画担当)
常任幹事 小林正美 (筑波大学) (企画担当)
常任幹事 原登志彦 (北海道大学) (企画担当)
常任幹事 牧野 周 (東北大学) (企画担当)

会計監査 小池裕幸 (中央大学)

光合成研究 第19巻 第3号 (通巻56号) 2009年12月31日発行

日 本 光 合 成 学 会

〒153-8902 東京都目黒区駒場3-8-1
東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系
池内・成川研究室 日本光合成学会
TEL: 03-5454-6641, FAX: 03-5454-4337
E-mail: photosyn@bio.c.u-tokyo.ac.jp
ホームページ: <http://photosyn.c.u-tokyo.ac.jp>
郵便振替口座 加入者名: 日本光合成学会 口座番号: 00140-3-730290