

クロロフィル類の分子間会合

Intermolecular Aggregation of Chlorophylls in Relation to the Molecular Assembly
of Photosynthetic Reaction Centers大庭 亨*・吉田 章一郎*・矢原 和幸*
小林 正美**・渡辺 正*Toru OBA, Shoichiro YOSHIDA, Kazuyuki YAHARA,
Masami KOBAYASHI and Tadashi WATANABE

光合成の初期過程を駆動する緑の色素クロロフィルは、同種分子間あるいは他分子との精妙な相互作用を介し構造タンパク質内部に納まった状態で固有の機能を果たす。とりわけ、光子エネルギーを電子エネルギーに切り換える反応中心は、いろいろな実験事実からクロロフィル 2 分子の会合体(二量体)だと一般に推測されている。分子レベルではまだまだ不明な部分の多い反応中心の実体に迫る道のひとつとして、クロロフィルの会合挙動と会合体の物性を調べる実験が行われてきた。高等植物のもつ 2 つの反応中心(P700, P680)のうち P700 に主眼を置いて、会合体研究の一端を紹介したい。

1. はじめに：光合成と反応中心

近年、自然環境と人間活動の調和が問い直される中、光合成への関心が高まっている。光合成は、光エネルギーをつかって水と二酸化炭素から酸素と炭水化物を合成し、食糧のすべてを供給すると同時に、グローバルな炭素循環を維持する壮大な化学プロセスである。また、超高速・高効率の光エネルギー変換システム設計の手本として、工学の眼でも興味深い。

高等植物では、クロロプラスト(葉緑体)という細胞内小器官中にあるチラコイド(小袋の意)の膜が、光合成初期過程の舞台となる。チラコイド膜内には、それぞれクロロフィル(chlorophyll, 以下 Chl と略)、キノン、ヘム鉄、鉄-硫黄クラスター、鉄イオンなどさまざまな機能分子を結合した100から200種類ほどのタンパク質が、三次元に整然と並んで機能単位をなす(図1)。光エネルギーで駆動される明反応がこの分子-タンパク質複合体で起こり、続く暗反応で、明反応の産物を利用した二酸化炭素の還元固定が進む。

明反応は、水 H_2O から電子を引き抜き、これを $NADP^+$ という有機分子に移す。1 電子につき1.2 eV の上り坂(uphill)移動に相当する。図1の機能単位あたり500~600分子存在するアンテナ Chl が吸収したエネルギーで、同じく Chl を素材にした反応中心(reaction center)を励起す

ることにより、この電子エネルギー(酸化還元エネルギー)が生まれる。Chl の励起エネルギーは約1.8 eV だから1段励起で足りるはずのところ、余裕をもって仕事をするためだろう、ラン藻と高等植物は2種類の反応中心を備え、直列の2段階励起で1.2 eV を生み出す。

反応中心と付随の機能分子群を光化学系(photosystem = PS)または系といい、 $NADP^+$ の還元側を系 I (PS I)、水の酸化側を系 II (PS II)と呼び慣わす。また、閃光照射時の吸収スペクトル変化をもとに、系 I と系 II の反応中心をそれぞれ P700, P680 と呼ぶ。記号で呼ぶのは、実体が不明だからにほかならない。光子エネルギーを電子エネルギーに切り換える反応中心は、光合成システムにおける最重要部品のひとつであり、その解明に向けた研究が精力的に続けられている。

2. 系 I 反応中心 P700

今までの研究によって、P700は次のような性質をもつことがわかっている^{1)~3)}。(1)光励起すると1ピコ秒程度のうちに電子を放出してカチオンラジカルとなり、このとき700 nm と682 nm 付近に鋭い吸光度減少を示す(図2。「P700」の由来)。(2)一電子酸化の酸化電位は+0.4 V (vs. NHE)前後で、孤立した Chl *a* 分子より400 mV ほど低い(それだけ酸化されやすい)。(3)カチオンラジカルは自由電子型の ESR 信号を示し、その線幅は7~8 ガウスで、Chl *a* 単量体の値(10.5 ガウス内外)の $1/\sqrt{2}$ に近い。(4) Chl 分子間の強い相互作用をにおわず特有の円偏光二色性

*東京大学生産技術研究所 第4部

**東京大学工学部

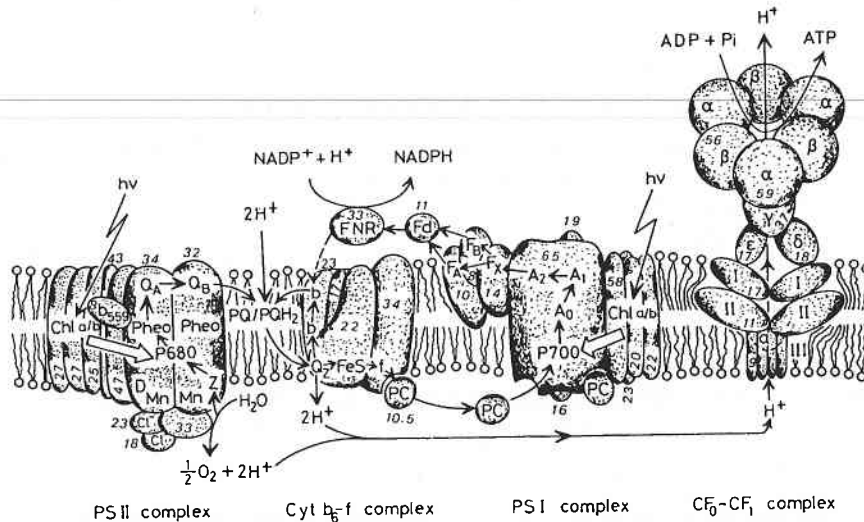


図 1. チラコイド膜上の機能分子の配列を簡略化して表したもの. 上がチラコイドの外液, 下が内液側. イタリック数字は各タンパク質の分子量(kDa). この機能単位に500~600分子のクロロフィルが含まれ, その99%近くは光エネルギーを捕集するアンテナとして働き, 1%程度が反応中心(P700, P680)とその近傍で電荷分離に関与する.

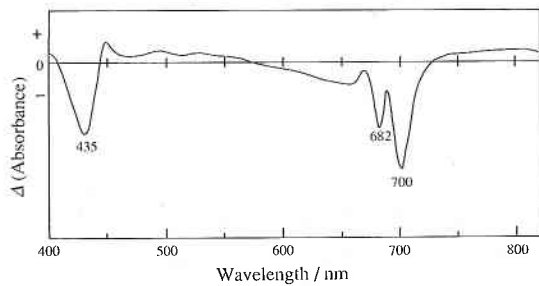


図 2. 系 I 反応中心 P700 の光励起 (一電子放出) に際して現われる吸光度スペクトル変化 (T. Hiyama and B. Ke, Biochim. Biophys. Acta, 267, 160-171 (1972) の原図を改写).

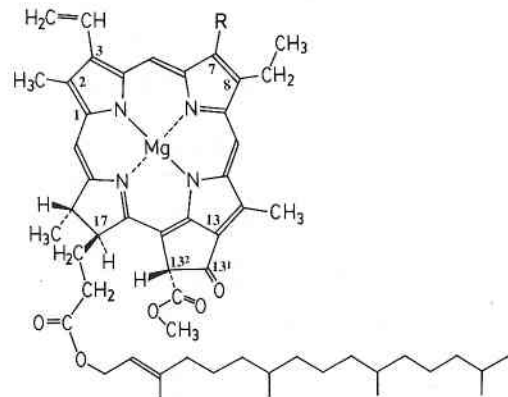


図 3. クロロフィル (Chl) 類の分子構造. R=CH₃ が Chl a, R=CHO が Chl b. Chl a の 13² 位についた H と COOCH₃ の位置が反転すると Chl a' になる. 中心の Mg が外れて 2 個の H に置き換わったものをフェオフィチン (Pheo) という.

(CD) スペクトルを示す.

以上をもとに, 多くの研究者は P700 が「Chl a の二量体」だと推測している. が, 素材が実際に Chl a かどうかも断定できていないし, 性質(1)~(4)をもたらすミクロな分子間相互作用の本質もわかっていない. その主因は, 周辺分子とともにタンパク質内部に納まって機能する P700 を, 活性を保った状態で生体外へ取り出せないことである. ごく最近, 系 I 色素-タンパク質複合体の結晶化と X 線構造解析が試みられたが⁵⁾, 分解能が 6Å と悪いこともあって明確な結論は出せていない.

こうした状況のもとでは, 生体外でつくった「P700 モデル」の性質と, 生体試料で蓄積されてきた間接知見をつき合わせるアプローチが有用となる.

3. クロロフィルの種類・存在状態と機能

クロロフィル (Chl) の構造を図 3 に示す. 15 年ほど前ま

で, 高等植物には Chl a と b のみ含まれると思われていた. しかし 1977 年, Chl a から中心金属 Mg の外れたフェオフィチン a (図 1 の Pheo) が系 II 反応中心の初期電子受容体だと判明したのを機に, 下等な細菌も含めて見直しが行われつつある. 図 1 の機能単位中わずか 2 分子しか占めないこの Pheo a は, 貴な酸化還元電位をもつために選ばれたと思われる. Chl b はアンテナ色素だけにつかわれ, 電子伝達系には存在しない^{1), 2)}. また, 本稿後半で主役になる Chl a' (図 3) は, 系 I 反応中心のごく近傍だけに存在する⁶⁾. このように光合成初期過程では, 微妙に構造 (つまりは物性) の異なるクロロフィル類が, 適材適所の原理によりつかわれている.

分子の種類に加え、ミクロな存在状態も物性を大きく左右する。たとえば同じ Chl *a* 分子でも、大多数を占めるアンテナ色素は構造タンパク質の内部で精密に決まった位置をとりながら弱く相互作用する集合体(オリゴマー)状態にあるらしいが、系 I の初期電子受容体(図 1 の A₀)は単量体の Chl *a* だといわれる^{1)~3),7)}。また、前述のとおり系 I 反応中心の P700 は Chl *a* 型色素の二量体である可能性が高く、系 II 反応中心の P680 も一般には Chl *a* の二量体だと想像されている(後者には疑問もあるが、本稿では議論を省く)。さらに、紅色光合成細菌の反応中心に 2 系統ある一見同等な電子伝達経路のうち、現実には片方しか働いていないという事実は、やはりミクロな化学環境の重要性を物語る^{8),9)}。

つまり生体中でクロロフィル類が光エネルギー捕集、エネルギー移動、電荷分離などの機能を発揮する上では、同種分子または異種分子間の微妙な相互作用が本質的であることに、最重要部品のひとつといえる反応中心では、同じ Chl 分子の会合(association, aggregation)が、機能と密接に関係しているらしい。反応中心が単離できない現在、生体外で Chl 類の会合体をつくり、その性質を調べて間接的ながら反応中心の実体に迫ろうとする研究の意義はきわめて大きい。

4. クロロフィルの会合研究

Chl 類の分子間会合に関する研究は、表 1 に示すさまざまな系を用いて古くから行われてきた。以下では、とくに P700 の素性解明を目的に、溶液中の Chl *a* に関して行われた研究の例を紹介する。その他の系で得られた知見については成書^{10),11)}にくわしい。

4.1 会合に伴う長波長シフト

生葉中の Chl について、赤色帯吸収ピーク波長が有機溶媒中の値(665 nm 付近)より長波長域にある(深色シフトしている)こと、また溶液中ではかなり強い蛍光がほとんど出ないことは、すでに前世紀末には認識されていた。1960年代まで、こうした異常吸収、蛍光消光の現象に興味

をもった研究者が、薄膜、水/アセトンや水/メタノールなどの含水有機溶媒^{10),12)}、エーテルやエタノールなどの極性溶媒^{13)~17)}を用いた分光測定を行った。たとえば Jacobs らは、Chl *a* の長いフィチル基を短いエチル基に置換したエチルクロロフィリド *a* を試料に、可視吸収スペクトル測定と顕微鏡観察を併用して水/アセトン中で生じる微結晶のサイズと吸収ピーク波長の関係を調べ、740 nm 付近にピークをもつ色素がおよそ 10⁷ 個の分子からなる集合体だと結論した¹²⁾。(エチルクロロフィリド *a* の結晶構造は、70年代中期に Strouse らの X 線回折測定で明らかにされている¹⁸⁾)。60年代初頭には Stensby と Rosenberg が、低温(77K)の Chl *a* エタノール溶液中で 705 nm にピークをもつ状態ができることを見出した¹⁴⁾。可視吸収と蛍光の測定をほとんど唯一の手段にしたこういう初期の研究では、会合体の構造に迫るのは困難だった^{15),17)}。

4.2 会合構造へのアプローチ

核磁気共鳴(NMR)、赤外分光(IR)などが普及した60年代以降になると、これらを用いた Chl 会合体の構造研究が活発に行われるようになった。なかでも米国アルゴンヌ国立研究所の Katz らのグループがこの分野を主導した。

彼らはまず、非極性溶媒に高濃度で溶かした Chl *a* を赤外分光でくわしく検討し、会合状態を反映する特徴的な吸収ピークを同定した。たとえば四塩化炭素中で生成する Chl *a* 会合体は、テトラヒドロフラン(THF)のような極性溶媒を加えていくと単量体に戻る(脱会合する)。このとき、最初と最後の赤外吸収スペクトルが図 4 のようになり、1650 cm⁻¹ 付近のピークが消えて 1700 cm⁻¹ 付近のピーク強度が増大した¹⁹⁾。後者は C13¹位(図 3 参照)のフリーなケトカルボニル(C=O)基の吸収と同定できることより、四塩化炭素中ではカルボニルの酸素原子が隣接 Chl 分子の Mg に配位した会合状態にあるため吸収波数が 1650 cm⁻¹ あたりまで大きくシフトしていたが、より強く配位する THF 分子との配位子交換が起こって脱会合したと解釈した^{19)~22)}。このように、会合には C=O の酸素原子と相手分子の Mg 原子の静電的相互作用が重要らしい。

表 1. 会合研究に用いられる系の分類

媒 質	例	文 献	
非極性溶媒	四塩化炭素など	19-28, 32-40, 58, 60	
	極性溶媒	エタノールなど	13-17, 27, 28
	含水有機溶媒	メタノール/水など	12, 29-31, 52, 53, 55-57, 59, 65-67
溶 液	高分子水溶液	PVA など	47, 48, 61
	界面活性剤水溶液	Triton X-100 など	49
	リポソーム	脂質	50, 51
	共有結合性会合体	—	41-45
固 体	薄膜, 結晶, 液晶	10, 11, 18	

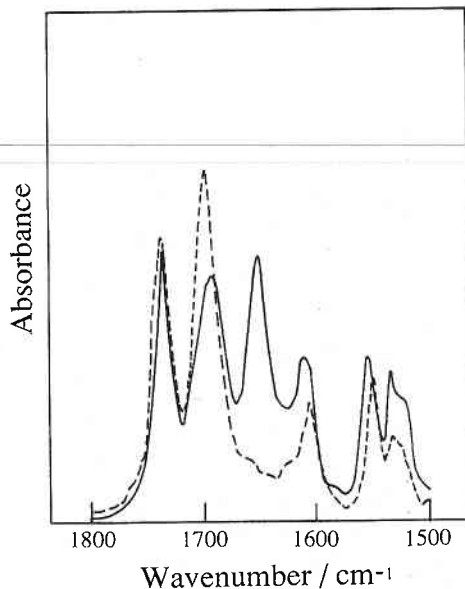


図4. Chl *a* の分子間会合と脱会合を示す赤外吸収スペクトル (文献19の原図を改写). 実線: 四塩化炭素 CCl_4 中の Chl *a* (濃度0.033 M); 破線: これに0.129 M のテトラヒドフラン (THF) を加えたもの.

図3でわかるとおり Chl 分子は3個の $\text{C}=\text{O}$ 基をもち、このうち $\text{C}13^1$ 位の $\text{C}=\text{O}$ が関与するというのが Katz 一派の主張であるが、75年代前後に Fong らは、 $\text{C}13^2$ 位の $\text{C}=\text{O}$ ではないかと推定した^{23)~25)}。これには Katz グループから反論が出ている²⁶⁾。

カルボニル基酸素の電子供与性(負電荷)と Mg の電子求引性(正電荷)はクロフィル分子の特徴のひとつで、これが一般に分子間会合の主因と見なされるが、別のメカニズムを考える研究者もいる¹⁶⁾。

70年代後半に入ると、レーザーの普及に伴ってラマン分光も構造研究に用いられるようになった。とくに共鳴ラマン散乱現象を利用すれば、赤外分光や NMR のように高濃度の試料をつかわなくても感度よく測定できる。共鳴ラマン測定により、上述の会合/脱会合プロセスの追跡^{27), 28)} や含水溶媒中の会合状態研究^{29)~31)} が、濃度0.1 mM 程度の試料で行われている。

会合する分子の数(会合次数)は、おもに2つの方法で検討されてきた。数 mM という高濃度で会合する非極性溶媒系では、蒸気圧測定から分子量の推算ができ、たとえば四塩化炭素やベンゼン中で二量体の形成が明らかにされた^{20), 32), 33)}。もうひとつは可視吸収スペクトルの濃度依存性から会合次数を決める方法で、若干の結果が60年代に報告されている^{16), 34)}。

会合体をなす Chl *a* 分子どうしの相対配置は、 ^1H 、 ^{13}C -NMR や可視吸収・CD スペクトルの解析で検討されてきたが、いずれも推測の域を出ていない^{35), 36)}。たとえば Katz らは、四塩化炭素中の Chl *a* 二量体についての一

連の解析^{19)~22), 33), 35), 37), 38)} をもとに、片方の分子の $\text{C}13^1$ ケトカルボニル基の酸素原子が他分子の Mg 原子に水素結合した T 字型の非対称構造を提案し^{19), 38)}、Sauer らは可視吸収・CD スペクトルの解析から、2つの環平面が 45° の角度をなす会合構造を推定した³⁹⁾。いっぽう Abraham らは、 ^1H -NMR によりクロロホルム/メタノール中の Chl *a* の脱会合挙動を調べ、環電流シフトにもとづいて会合構造を検討したが、結果は Katz や Sauer らとはかなり異なっている³⁶⁾。

4.3 P700の構造モデルの提案

前述のとおり、「P700=Chl *a* 二量体」なる推定は、おもにカチオンラジカル(一電子酸化体)の ESR 線幅から導かれた。ESR 線幅が孤立分子に比べて狭いという事実は、P700が、不対電子を分子間に非極在化させる対称な構造をとっているのではと思わせる⁴⁾。したがって、P700モデルとしても、対称性をもつようなものが有力となる。前述した Fong らのモデルも、これに合う C_2 対称であった^{23), 24)}。

Shipman らは、微量のエタノールを含むトルエンに溶かした Chl *a* が低温下で見せる700 nm 付近の吸収ピークを、図5のような対称な二量体構造に起因すると推測した⁴⁰⁾。Chl *a* 分子の $\text{C}13^1$ 位ケトカルボニル基が、互いに溶媒分子を介して相手分子の Mg に配位し、全体として C_2 対称になっている。2つの分子環(クロリン環)は部分的に重なり合い、強い相互作用を及ぼし合えるほど近い距離にある。この二量体を光励起すると P700によく似た ESR シグナルが得られる事実は、構造の対称性⁴⁾ と P700モデルとしての妥当性を示唆していた。

70年代後半になると、2分子を共有結合で結びつけた安定で構造の確実な二量体が合成され、P700との性質の比較が行われた^{41), 42)}。Chl *a* 2分子を一本の炭素鎖でつないだ二量体は、微量の水を含む非極性溶媒中で深色シフト(吸収: 700 nm, 蛍光: 730 nm)を示し、2分子が折りた

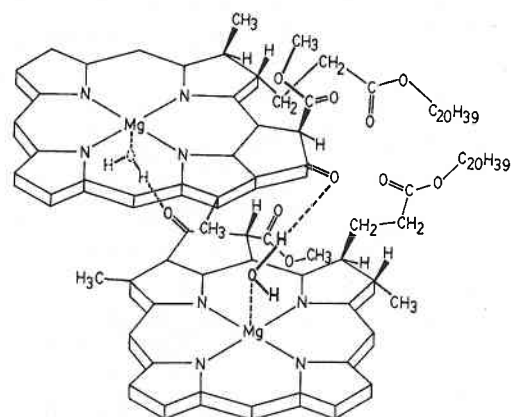


図5. Shipman らの提案した Chl *a* 二量体モデル (文献40の原図を改写).

たまれて図5のような会合構造をとっていると推定された。700 nmの吸収強度は光照射によって減少し、酸化の中間電位は+0.5 V、酸化体の ESR 線幅は7.54 Gaussであり、P700に酷似している⁴²⁾。

Chl どうしを2本鎖で結んだ分子も合成されたが、深色シフトは起こらなかった^{43), 44)}。1本鎖、2本鎖結合二量体の吸収・CDスペクトルを励起子理論で解析した結果によると、2分子の相対的位置が分光特性に大きな影響を与えるようである⁴⁵⁾。X線回析で構造が突き止められた紅色光合成細菌の反応中心 P960では、2個のバクテリオクロロフィル分子が互いに面を向かい合わせ、分子軸をほぼ反平行にして環の一部だけ重なるような位置関係にあることがわかっている⁴⁶⁾。これは、Chl 類の会合体や P700の構造を推定する上で示唆に富む。

4.4 生体内環境のモデル化

光合成細菌反応中心タンパク質の構造解析は、Chl 類が Mg や C=O 基などを介してアミノ酸残基と水素結合し、タンパク質内部に固定されていることを示した^{8), 9)}。同様な相互作用は高等植物でも予想されるため、水溶性高分子やアミドなどを Chl と共存させて生体内環境を模倣した系が検討されている^{30), 47)~53)}。稲村ら⁴⁷⁾や上原ら⁴⁸⁾はポリビニルアルコール(PVA)、ポリビニルピロリドンなどの合成高分子やタンパク質(BSA)を加えた水溶液中での会合挙動を調べている。楠元らは、含水溶媒系にアミドを加えると Chl の吸収・蛍光・ラマンスペクトルが変化することを見出した³⁰⁾。また Scherz らは光合成細菌反応中心のモデルとして、界面活性剤を含むホルムアミド/水中のバクテリオクロロフィルの会合を吸収・CD測定で調べた^{52), 53)}。ホルムアミド-水の水素結合でできた疑似ペプチド鎖に色素が結合し、これが界面活性剤のミセルに複数取りこまれて会合が起こると彼らは考えている。

5. 著者らの研究

5.1 クロロフィル a' の検出

当研究室では10年ほど前、生葉中で Chl 型色素の1%近くも占める Pheo a がやっと1980年前後に「認知」されたという事実を見て、色素分析法の不備を痛感し、分析手段の開発研究を始めた。その途上、偶然ながら生葉中に Chl a の C13²位立体異性体 Chl a' (図3)を検出した。以後多少の曲折ののち、この色素がちょうど2分子だけ、系 I 反応中心のコア部分(P700と近傍を構成する Chl 型分子10個のうち)に存在することを知った⁷⁾。1機能単位(図1)に2分子だから、この色素は葉の緑色の1/300を占める。またライデン大学との共同研究により、系 I の祖先と目される光合成細菌ヘリオバクテリアの反応中心にも、同じ立体化学の色素を2分子検出した⁵⁴⁾。

話を Chl a' にかぎり、とりあえずこの色素が光合成の

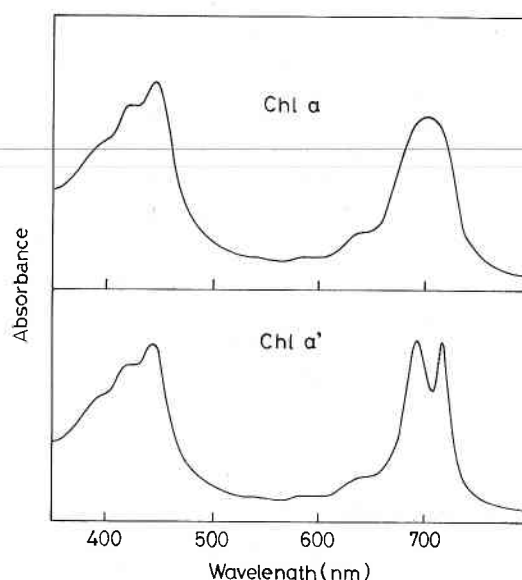


図6. 水/メタノール(体積比2/3)中で会合した Chl a と Chl a' の可視吸収スペクトル(濃度: 約5 μM)。

必須部品だと仮定した上で、まず、2個の分子がそれぞれ単独で機能しているか、対になって機能しているかという問題がある。孤立分子の物性を調べてみると、光合成初期過程を駆動するのに本質的な光吸収、発光、酸化還元電位について Chl a と a' に差はなかった。したがって、Chl a' が単独で働く必然性はないであろう。そこで、まだ仮説にすぎないが、Chl a' は系 I 反応中心において二量体を形成し、P700 そのものとなっているのではないかとわれわれは想像している。

この仮説を検証する目的で、Chl a' の会合挙動と、できた会合体の性質を調べる研究を始めた。そのあらましを以下で紹介する。かりに P700 が Chl a' の二量体であると証明できれば、過去数十年来の定説がくつがえることになり、分子を用いる光エネルギー変換システム設計にも有用な知見を提供するだろう。

5.2 水/メタノール中での会合挙動

手始めに、Chl a についてはいくつか報告^{30), 55), 56)}のある水とメタノールの混合溶媒を会合媒質に選び、分光計測により会合挙動を調べた。その結果、Chl a は複数成分の混合物を思わせるブロードな吸収帯を700 nm に生じるのに対し、Chl a' は2つの分裂したシャープな吸収帯(692, 716 nm) (図6)と強い対称な CD スペクトルを赤色域に示した⁵⁷⁾、また Chl a がときに見せる740 nm 付近まで大きく深色シフトした吸収帯は、Chl a' では出現しない。同様なことはメタノールをエタノールやプロパノールに変えても見られるので、C13²位の立体化学に特有な挙動だと考えられる。非極性溶媒中では Chl a と a' の間にこうした顕著な差が出ないことより⁵⁸⁾、C13²の立体異性が会合挙動に及ぼす効果を評価するには水/アルコール混合溶媒系

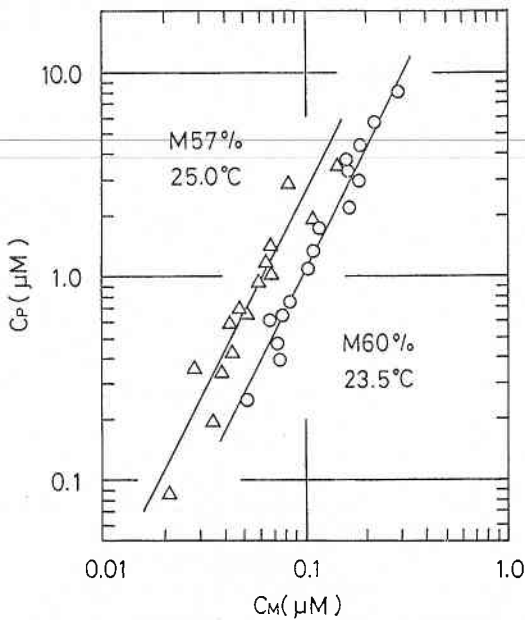


図7. 水/メタノール混合溶媒(Mはメタノールの体積%)中で生成するChl a'会合体についての会合体濃度(C_P)対モノマー濃度(C_M)の両対数プロット. 勾配(〜2.0)が会合次数に相当.

が適しているといえる(バクテリオクロロフィル a と a' の場合, 界面活性剤を加えた水/ホルムアミド混合溶媒中で顕著な差が確認されている⁵³⁾).

Chl a'の独特な吸収スペクトルは, 溶媒組成:メタノール70~40体積%, 温度:-10~+30°C, 濃度:0.5~10 μMの範囲で現れ, 吸収・CDスペクトルの経時変化と, スペクトル形状が濃度によらないことから, 分裂した2つのピークが同一成分に由来することがわかった. さらに, 吸収スペクトルの濃度依存性より会合次数を見積ったところ, 図7に示す結果から, Chl a'会合体は二量体だと結論できた⁵⁹⁾.

まだ断定はできないが, 図6のChl a'会合体(二量体)のスペクトルが, 図2に示したP700の差スペクトルを反転させた形に近いという事実, およびChl aではこのようなスペクトルの会合体が生じないという事実は, Chl a'二量体が光合成系Iの反応中心P700そのものを構成している可能性を強く示唆する.

5.3 高分子水溶液中での会合挙動

ポリビニルアルコール(PVA), ポリビニルピロリドン(PVP), 牛血清アルブミン(BSA)のような高分子の水溶液中で, Chl aは730~750 nm領域にブロードな吸収をもつ会合体となることが知られているが^{47), 48)}, Chl a'の研究例はなかった. PVA水溶液を用いて調べてみたところ, 図8に示すように, 赤色帯において両者に著しい差が認められた. すなわちChl aでは過去の報告どおり多量体(おそらく数百以上の分子の集合体)に相当する吸収ピークが

735 nm付近に現れ, いっぽうChl a'ではずっと短波長の705~710 nmに新しい吸収ピークが生長した. Chl a'の会合次数を予備的に見積ると6程度となり, 二量体を含むオリゴマーの混合物ではないかと推測される. 今のところ水/メタノール混合溶媒中のような純粋な二量体は得られていないが, 高分子水溶液中でもChl分子のC13²立体異性が会合挙動を大きく左右する事実を確認できたことになる.

5.4 中心金属置換クロロフィルの会合挙動

下等な光合成細菌から高等植物まで, 光合成器官で機能するクロロフィル類は, 例外なく中心金属としてMgをもつ錯体である. なぜMgが選ばれたのかを明らかにするのは, 光合成のよりよい理解につながる研究課題となろう. 当研究室では以前, 天然のMgを約15種の別の金属Mで置き換えた中心金属置換クロロフィル a (M-Chl a)を合成し, 光合成初期過程の駆動に関する光吸収, 発光, 酸化還元電位, 光酸化還元挙動を一連に調べた^{60)~63)}. その結果, とくに酸化還元電位(光励起時の電子放出能に関連)および蛍光量子収率(エネルギー移動効率に関連)の二面で, 他の金属に比べMgがはるかに優位にあると結論できた.

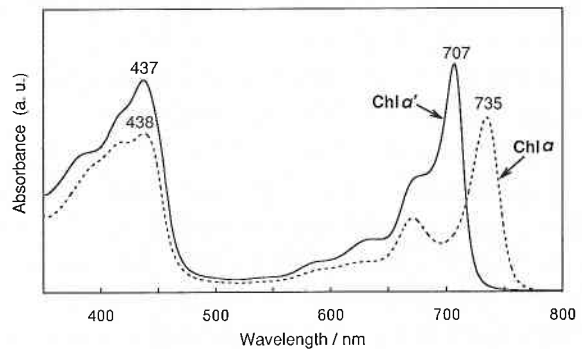


図8. PVA水溶液中で生成するChl aとChl a'の会合体の吸収スペクトル. 670 nm付近の吸光度成分がモノマーの残存を示す.

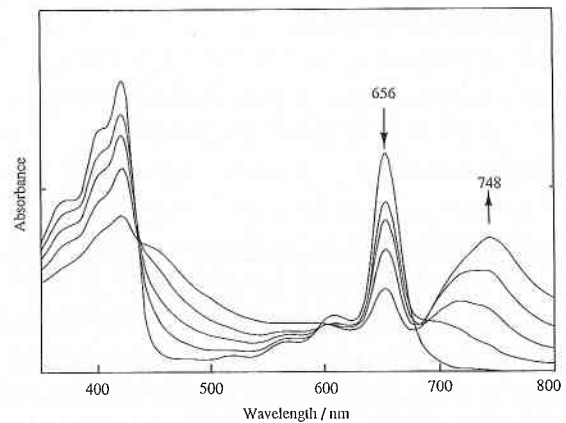


図9. 水/メタノール混合溶媒(M 60%)中でのZn-Chl aの会合を示すスペクトル変化(濃度: 1 μM, 時間: 0~115分). 同じ条件でZn-Chl a'の会合は進まない.

いま問題にしている分子間会合でも、上でも述べたとおり、中心金属 Mg (の有効電荷) が重要な役割を演じると考えられる。これに着目した研究は、四半世紀ほど前に Boucher と Katz⁶⁴⁾ が、水溶性の Mg⁻, Zn⁻, Ni⁻, Cu-クロロフィリド *a* の会合挙動を赤外分光で調べた一例しかない。水/メタノール系や PVA 水溶液中で Chl *a* と *a'* の会合特性に顕著な相違が見出されたのを機に、改めて系統的な測定を開始した。

たとえば水/メタノール中、金属上の有効電荷が Mg に近い Zn で置換した Zn-Chl *a* は、天然の Mg-Chl *a* によく似た 750 nm 付近のブロードな吸収を生じるが(図 9), Zn-Chl *a'* ではほとんど会合挙動は認められなかった。有効電荷が Zn より負の金属(貴な金属)で置換した色素は、*a* 型でも *a'* 型でもきわめて会合しにくい。このような知見の集積によって、クロロフィル類の会合挙動を分子レベルで明らかにできるものと期待している。

6. お わ り に

以上、クロロフィル分子間の会合に関する研究の背景や意義について概観した。高等植物の光合成器官にオングストロームサイズのメスが入るまでにはなお長い時間がかかると予想され、その日まではこうした間接的な研究方法も十分に有用だと考える。

2 種類の反応中心のうち系 I にかざれば、筆者らが初めて見出した Chl *a'* が 2 分子会合して反応中心 P700 を構成している可能性がある。当面、共鳴ラマン測定などにより Chl *a'* 二量体の構造解明を目指しているが、上記 2 に述べた P700 の諸物性(カチオンラジカルの ESR シグナル、酸化還元電位、酸化還元時のスペクトル変化など)についても幅広く比較研究を実施し、「P700=Chl *a'* 二量体」仮説を検証したい。これによって、光合成初期過程を駆動する上でクロロフィル類のもつ独特な分子構造がどのような意味を有するかに関しても、理解がさらに深まると期待する。

(1993年10月18日受理)

参 考 文 献

- 1) J. Barber, Ed., The Photosystems: Structure, Function and Molecular Biology, Topics in Photosynthesis, Vol. 11, Elsevier, Amsterdam, 1992.
- 2) J. Golbeck, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 43, 293-324 (1992).
- 3) 伊藤 繁, 蛋白質核酸酵素, 34, 755-767 (1989).
- 4) J. R. Norris, R. A. Uphaus, H. L. Crespi, and J. J. Katz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 68, 625-628 (1971).
- 5) N. Krauss, W. Hinrichs, I. Witt, P. Fromme, W. Pritzkow, Z. Dauter, C. Betzel, K. S. Wilson, H. T. Witt, and W. Saenger, Nature, 361, 326-330 (1993).
- 6) H. Maeda, T. Watanabe, M. Kobayashi, and I. Ikegami, Biochim. Biophys. Acta, 1099, 74-80 (1992); T. Watanabe, M. Kobayashi, H. Maeda, T. Oba, S. Yoshida, E. J. van de Meent, and J. Ames, Research in Photosynthesis, N. Murata, Ed., Vol. 3, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1992), pp. 3-10; M. Kobayashi, T. Watanabe, M. Nakazato, I. Ikegami, T. Hiyama, T. Matsunaga, and N. Murata, Biochim. Biophys. Acta, 936, 81-89 (1988).
- 7) 高橋裕一郎, 佐藤公行, 蛋白質核酸酵素, 34, 741-753 (1989).
- 8) 三木邦夫, J. Deisenhofer, H. Michel, 蛋白質核酸酵素, 34, 726-740 (1989).
- 9) H. Michel, O. Epp, and J. Deisenhofer, EMBO J., 5, 2445-2451 (1986).
- 10) J. J. Katz, M. K. Bowman, T. J. Michalski, and D. L. Worcester, in Chlorophylls (H. Scheer, Ed.), pp. 211-235, CRC Press, Boca Raton, 1991.
- 11) G. R. Seely, in Primary Processes of Photosynthesis (J. Barber, Ed.), Topics in Photosynthesis Vol. 2, pp. 23-53, Elsevier, Amsterdam, 1977.
- 12) E. E. Jacobs, A. S. Holt, R. Kromhout, and E. Rabinowitch, Arch. Biochem. Biophys., 72, 495-511 (1957).
- 13) W. F. Watson and R. Livingston, J. Chem. Phys., 18, 802-809 (1950).
- 14) P. S. Stensby and J. L. Rosenberg, J. Phys. Chem., 65, 906-909 (1961).
- 15) M. Brody and S. S. Brody, Biochim. Biophys. Acta, 112, 54-57 (1966).
- 16) S. B. Brody, S. S. Brody, and M. Brody, Biochim. Biophys. Acta, 153, 183-187 (1968).
- 17) S. S. Brody and S. B. Brody, Biophys. J., 8, 1511-1533 (1968).
- 18) H.-C. Chow, R. Serlin, and E. Strouse, J. Am. Chem. Soc., 97, 7230-7237 (1975).
- 19) J. J. Katz, L. L. Shipman, T. M. Cotton, and T. R. Janson, in The Porphyrins (D. Dolphin, Ed.), Vol. 5, pp. 401-458, Academic Press, New York, 1988.
- 20) J. J. Katz, G. T. Closs, F. C. Pennington, M. R. Thomas, and H. H. Strain, J. Am. Chem. Soc., 85, 3801-3809 (1963).
- 21) F. C. Pennington, H. H. Strain, W. A. Svec, and J. J. Katz, J. Am. Chem. Soc., 86, 1418-1426 (1964).
- 22) K. Ballschmiter and J. J. Katz, J. Am. Chem. Soc., 91, 2661-2677 (1969).
- 23) F. K. Fong and V. J. Koester, J. Am. Chem. Soc., 97, 6888-6890 (1975).
- 24) F. K. Fong, J. Am. Chem. Soc., 97, 6890-6892 (1975).
- 25) F. K. Fong and V. J. Koester, Biochim. Biophys. Acta, 423, 52-64 (1976).
- 26) T. M. Cotton, P. A. Loach, J. J. Katz, and K. Ballschmiter, Photochem. Photobiol., 27, 735-749 (1978).
- 27) M. Fujiwara and M. Tasumi, J. Phys. Chem., 90, 250-255 (1986).
- 28) M. Fujiwara and M. Tasumi, J. Phys. Chem., 90, 5646-5650 (1986).
- 29) Y. Koyoma, Y. Uemoto, A. Akamatsu, K. Uehara, and M. Tanaka, J. Mol. Struct., 146, 273-287 (1986).
- 30) 蔵脇淳一, 楠元芳文, 日本化学会誌, 1020-1028 (1990).
- 31) K. Uehara, Y. Hioki, and M. Mimuro, Photochem. Photo-

- biol., 58, 127-132 (1993).
- 32) S. Aronoff, *Arch. Biochem. Biophys.*, 98, 344-346 (1962).
- 33) K. Ballschmiter, K. Truesdell, and J. J. Katz, *Biochim. Biophys. Acta*, 184, 604-613 (1969).
- 34) K. Sauer, J. R. Lindsay-Smith, and A. J. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 2681-2688 (1966).
- 35) A. D. Trifunac and J. J. Katz, *J. Am. Chem. Soc.*, 96, 3233-3240 (1974).
- 36) R. J. Abraham, D. A. Goff, and K. M. Smith, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1, 2443-2451 (1988).
- 37) G. T. Closs, J. J. Katz, F. C. Pennington, M. R. Thomas, and H. H. Strain, *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 3809-3821 (1963).
- 38) L. L. Shipman, T. M. Cotton, J. R. Norris, and J. J. Katz, *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 8222-8230 (1976).
- 39) C. Houssier and K. Sauer, *J. Am. Chem. Soc.*, 92, 779-791 (1970).
- 40) L. L. Shipman, T. M. Cotton, J. R. Norris, and J. J. Katz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 1791-1794 (1976).
- 41) S. G. Boxer and G. L. Closs, *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 5406-5408 (1976).
- 42) M. R. Wasielewski, M. H. Studier, and J. J. Katz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 4282-4286 (1976).
- 43) M. R. Wasielewski, W. A. Svec, and B. T. Cope, *J. Am. Chem. Soc.*, 100, 1961-1962 (1978).
- 44) R. E. Overfield, A. Scherz, K. J. Kaufmann, and M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.*, 105, 4256-4260 (1983).
- 45) R. R. Bucks and S. G. Boxer, *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 340-343 (1982).
- 46) J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber, and H. Michel, *J. Mol. Biol.*, 180, 385-398 (1984).
- 47) I. Inamura, T. Araki, M. Shei, T. Nishikakwa, H. Shibata, and H. Ochiai, *Biochim. Biophys. Acta*, 932, 335-344 (1988).
- 48) K. Uehara, M. Mimuro, Y. Fujita, and M. Tanaka, *Photochem. Photobiol.*, 48, 725-732 (1988).
- 49) A. Schmidt, J. Gottstein, H. Sheer, and A. Scherz, *Z. Naturforsch.*, 45c, 729-732 (1990).
- 50) H. Dukmans, R. M. Leblanc, F. Cogniaux, and J. Aghion, *Photochem. Photobiol.*, 29, 367-372 (1979).
- 51) M. van Gurp, G. van Ginkel, and Y. K. Levine, *Biochim. Biophys. Acta*, 938, 71-78 (1988).
- 52) A. Scherz, V. Rosenbach-Belkin, and J. R. E. Fisher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 5430-5434 (1990).
- 53) V. Rosenbach-Belkin, J. R. E. Fisher, and A. Scherz, *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 676-678 (1991).
- 54) M. Kobayashi, E. J. van de Meent, C. Erkelens, J. Amesz, I. Ikegami, and T. Watanabe, *Biochim. Biophys. Acta*, 1057, 89-96 (1991).
- 55) H. Dijkmans, *Eur. J. Chem.*, 32, 233-236 (1972).
- 56) K. Iriyama and M. Yoshiura, *Colloid Polymer Sci.*, 255, 133-139 (1977).
- 57) T. Watanabe, M. Kobayashi, A. Hongu, and T. Oba, *Chem. Lett.* 1847-1850 (1992).
- 58) P. Hynninen, *Z. Naturforsch.*, 39b, 675-678 (1984).
- 59) T. Oba, M. Kobayashi, S. Yoshida, and T. Watanabe, 未発表.
- 60) T. Watanabe, A. Fujishima, and K. Honda, in *Energy Resources through Photochemistry and Catalysis*, M. Grätzel, Ed., Academic Press, New York (1983), pp. 359-384.
- 61) T. Watanabe, K. Machida, H. Suzuki, M. Kobayashi, and K. Honda, *Coord. Chem. Rev.*, 64, 207-224 (1985).
- 62) 渡辺 正, 小林正美, *日本化学会誌*, 383-395 (1988).
- 63) T. Watanabe and M. Kobayashi, in *Chlorophylls*, H. Scheer, Ed., CRC Press, Boca Raton (1991), pp. 287-315.
- 64) L. J. Boucher and J. J. Katz, *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 4703-4708 (1967).
- 65) B. B. Love, *Biochim. Biophys. Acta*, 64, 318-323 (1962).
- 66) B. B. Love and T. T. Bannister, *Biophys. J.*, 3, 99-113 (1963).
- 67) K. Uehara, M. Mimuro, and M. Tanaka, *Photochem. Photobiol.*, 53, 371-377 (1991).