

業績紹介：近赤外レーザーと光合成色素の意外な相互作用の発見 —常温で葉緑体の光化学系 I 蛍光を容易に観測する新手法—

熊崎茂一（京大院理・計画研究代表者）

論文題目：“ Selective Excitation of Photosystems in Chloroplasts Inside Plant Leaves Observed by Near-Infrared Laser-Based Fluorescence Spectral Microscopy”

著者： Makoto Hasegawa, Takashi Shiina, Masahide Terazima, and Shigeichi Kumazaki

雑誌巻号: *Plant Cell Physiol.* **51**, 225-238 (2010)

植物などの葉緑体のクロロフィル自家蛍光は、常温で測定する限り光化学系 II (系 II) の蛍光が支配的で、光化学系 I (系 I) の蛍光を観測するには液体窒素温度を用いることが一般的に行われてきた。我々は近赤外レーザー(中心波長は主に 800 - 830 nm)を用いた顕微鏡蛍光スペクトル顕微鏡によって植物の葉緑体を調べるうちに、モードロックパルスでは 2 光子励起によって系 II 蛍光(約 690nm) が強く観測されることは通常の可視光線励起と同様だが、連続発振(CW)させたレーザーでも蛍光(約 730 nm)が観測され、その蛍光では系 I 蛍光が異常に強いことを発見した。「比較的強い系 II 蛍光に比べると、常温では系 I 蛍光が見えない(非常に見えにくい)」という葉緑体研究の常識を覆すことができたことになる。

系 I を選択励起するためとして通常用いられてきた光の波長はせいぜい 740nm であり、それ以上の長波長側では 1 光子励起による吸収は全く考慮されてこなかった。当初、我々自身も 800nm では 2 光子励起のみを想定してきた。我々の CW レーザーではモードロック発振状態に比べ、同じ平均パワーでの 2 光子励起確率はおよそ 4 桁低いと計算されるが、蛍光強度は 1 桁しか違ってない上にスペクトル形は全く異なる。蛍光強度が近赤外 CW レーザーの平均パワーに依存する様子を調べたところ、パワーの一次に比例していた。レーザーの散乱が蛍光スペクトルに含まれている可能性も排除できた。用いた試料のトウモロコシは C_4 植物であり、維管束鞘細胞の葉緑体では系 II 量が少ない。一方、葉肉細胞の葉緑体は系 II が多い。この葉緑体の分化の様子は我々のモードロック励起と CW 励起の切替で特に強調され、CW レーザーで系 I 励起の割合が異常に高いという法則性はどちらの葉緑体でも成り

立っていた。葉緑体中での系 I と系 II のスペクトル形状も統一的に決定できた。

このように、近赤外 CW レーザーによる励起は葉緑体の系 I 量を常温で知る新分析手法として有望である。我々は葉緑体中の系 II と系 I の蛍光スペクトルを得たので、葉緑体内部の全ての点で系 I・系 II へのスペクトル分解を行い、系 I と系 II の分布の違いを示すことができた。そこでは光合成膜の重層構造(グラナ)とその他の領域の蛍光スペクトルの違いも見えている。しかし、再吸収効果によって蛍光スペクトル形状は変形を受けるので、その点の改良が今後の課題である。現在、他の植物、緑藻の葉緑体やシアノバクテリアの場合の近赤外 2 光子励起・1 光子励起の蛍光スペクトルの違いを通じて各生物の色素タンパク質機能の差異を理解する研究に広く応用しようと試みている。

この論文の中では、CW 近赤外レーザーによる光合成色素の励起をアンチストークス蛍光と呼んでいる。調べた限り、アンチストークス蛍光の観測例は溶液中などで数例あるが、それを生体イメージングに有効に適用した例はこれが世界初であろう。

