

業績紹介：アンチストークス顕微蛍光スペクトルの特性評価と顕微吸収スペクトルの併用 ---緑藻と植物の差異、およびクロロフィル会合体形成過程の観測---

熊崎茂一（京大院理・計画研究代表者）

論文題目： "Anti-Stokes Fluorescence Spectra of Chloroplasts in *Parachlorella kessleri* and Maize at Room Temperature as Characterized by Near-Infrared Continuous-Wave Laser Fluorescence Microscopy and Absorption Microscopy "

著者： Makoto Hasegawa, Takahiko Yoshida, Mitsunori Yabuta, Masahide Terazima, and Shigeichi Kumazaki

雑誌巻号: *J. Phys. Chem. B*, 115(14) 4184 - 4194, (2011)

先の論文(*Plant Cell Physiol.* 51(2) 225 - 238, (2010))で報告したように、我々は「常温では葉緑体の系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アンチストークス蛍光スペクトル法を提案し、常温の葉緑体で内部の系Ⅰと系Ⅱの蛍光強度分布を画像化することに世界で初めて成功した。しかし、トウモロコシの葉緑体(葉肉細胞葉緑体と維管束鞘細胞葉緑体)で確認されたのみの現象であったため、その信号がどれだけ正確に系Ⅰ蛍光スペクトルを表しているのかについて疑念が残されていた。本論文では、トウモロコシの葉緑体と共に緑藻の一種であるクロレラ(*Parachlorella kessleri*)においてアンチストークス蛍光スペクトルを調べた。クロレラにおいては77Kなどの低温で系Ⅰ蛍光スペクトルの極大波長が715-725nmであると報告されており、トウモロコシなどの植物が735-740nmに極大波長を示すのに比べ短波長である。この特徴を常温の系Ⅰアンチストークス蛍光スペクトルが示すのか否かに着目した。

果たして、ほぼ期待通り、クロレラの場合、連続発振レーザー(785 nm)によって増大する系Ⅰ特有成分の極大波長は710 nmであった(図 左パネル)。トウモロコシでは葉肉細胞葉緑体と維管束鞘細胞葉緑体の両方において、系Ⅰ特有成分の極大波長は730 -740 nmと得られた(図 右パネル)。先のトウモロコシに関する論文では連続発振レーザー波長は800-820nmであったのに対し、今回は連続発振レーザーとして785nmを用いたが、系Ⅰ特有成分の極大波長が変わらなかった点も、この信号がラマン散乱などではなく、蛍光スペクトルであることを支持するものであった。

さらに、藻類の細胞を有機溶媒に接触させると

740nm 近辺で吸収を示すクロロフィル会合体が形成することが知られてきた。これは系Ⅰに少数含まれる長波長吸収クロロフィルの人工的なモデルともみなせる。アンチストークス蛍光スペクトルで系Ⅰ蛍光が強く得られる原因が系Ⅰの長波長吸収クロロフィルであるならば、そのような人工的長波長吸収クロロフィルが形成していく過程はアンチストークス蛍光スペクトルで追跡し易いはずである。実際に、我々はアセトンを含む15%の培養液にクロレラ細胞を浸すことにより10時間以上にわたって変化していくクロレラの蛍光スペクトルを細胞毎に調べ、アンチストークス蛍光によってクロロフィル会合体の形成が容易に観測できることを確認した。また蛍光スペクトルと共に同一細胞を顕微吸収スペクトルによっても調べ、整合的な結果を得た。これは細胞が壊れていく過程を見ることにほかならず、生理的意味は弱いだが、有機溶媒が藻類細胞に働く様子を蛍光スペクトル顕微鏡で詳しく追跡した初の観測例として、生体を扱う物理化学としての価値は十分あるだろう。長波長クロロフィル会合体は一般に単量体的クロロフィルに比べ、蛍光量子収率が低く蛍光スペクトルを得難い。しかしアンチストークス蛍光を用いるとこれが容易になる。この現象にはいくつかの応用も考えられる。例えば、色素増感太陽電池などで低エネルギーシフトして、励起状態を消失させるトラップ準位の存在をアンチストークス蛍光で鮮明に見ることができるのではないかと推察もされる。

