



# 光合成色素を分析し、 身近な生物の進化を探ってみよう！

東京理科大学 創域理工学部 生命生物科学科 教授  
農理工学際連携コース 副コース長

朽津 和幸  
くちつ かずゆき

東京理科大学 創域理工学部 生命生物科学科 助教

友井 拓実  
ともい たくみ

## 植物と様々な光合成生物

植物などの光合成生物は、太陽光のエネルギーを活用して、二酸化炭素や硝酸などの無機物から、アミノ酸をはじめとする生物を構成する様々な物質を合成できる。家畜の飼料も植物であり、私たちの衣食住は植物に支えられている。さらに、石油、天然ガス、石炭などの化石燃料は太古の光合成生物の死骸に由来することを考えると、人類が直面している食料・環境・エネルギー問題の解決のためには、植物などの光合成生物を深く理解し活用することが鍵を握ることと分かる。

二酸化炭素などの無機物から有機物を合成するには還元反応、すなわち電子が必要だ。光エネルギーを使って電子を取り出す源として様々な化合物を用いる光合成細菌が存在する。その中で最も効率が高いのが、水から電子を取り出し、余った酸素を発生する、シアノバクテリア（藍藻とも呼ばれる細菌、すなわち原核生物）の光合成だ。光合成を行う全ての真核生物がもつ細胞内小器官である葉緑体は、生物進化の過程でシアノバクテリアの細胞内共生により生まれた。植物などの真核光合成生物の光合成のメカニズムはシアノバクテリアとよく似ている。

私たちの身近には、陸上植物の他に、アオサなどの緑藻、焼海苔として親しまれているアマノリ類を含む紅藻、ワカメ、昆布、ヒジキなどを含む褐藻など様々な光合成を行う生物が存在する。こうした生物は進化的にどのような歴史を辿ってきたのだろうか？

近年は、遺伝情報の担い手 DNA の塩基配列の大規模解析に基づくゲノム情報から進化を探る分子系統解析が盛んだ。しかし、光合成色素を抽出し、分析・比較するだけでも光合成生物の進化の一端を学ぶことができる。ここでは身近な光合成生物の色素を抽出し、薄層クロマトグラフィー法を使って分析する簡単な実験を紹介し、光合成生物の進化に思いを馳せてみたい。

## 光合成色素の抽出と分析

クロマトグラフィーは二相間の物質の分配、吸着の

差を利用して混合物の分離を行う方法で、分離する物質の固定相への吸着、展開溶媒との親和性の差などが移動速度の違いとなって現れる。ペーパークロマトグラフィーも高校等でよく行われているが、ここではより短時間で実験可能で簡便な薄層クロマトグラフィー（TLC）法を紹介する。

身近な陸上植物は何を用いても良いが、ここでは例としてタンポポの葉を使う。以前は日本でカントウタンポポがよく見られたが、最近の都市部ではセイヨウタンポポまたは両者の雑種がほとんどだろう。紅藻の代表として焼き海苔（スサビノリまたはアサカサノリが主成分と思われる）、褐藻の代表として乾燥ワカメ、緑藻の代表としては“あおさ”として市販されているヒトエグサ、青さ粉として市販されているアオサ、青のりとして市販されているスジアオノリなどがスーパーマーケットで入手できる。シアノバクテリアは野外で見られることも少なくないが、その一種のスイゼンジンノリは“川茸”として食されているので、ここではそれを用いた。

## 試料の作成と色素抽出

- ① 乳鉢に植物試料とシリカゲル乾燥剤（できれば炭酸マグネシウムも）を入れ、乳棒でさらさらの粉末状になるまですりつぶす【図 1A】。乾燥試料は少量の水で戻した後、水分をできるだけ拭き取って使う。
- ② 粉末状になった試料を葉さじでかき取り、葉包紙の上に集めた後、マイクロチューブの 0.5 mL の線の下あたりまで入れる。その後、0.8 mL 程度のジエチルエーテルを加える。強く攪拌して十分に混和し、（できれば小型の遠心分離機にかけ、）上澄みを色素抽出液として使う。

## 展開準備と色素抽出液の塗布

- ③ ガラス製の展開槽に展開溶媒（石油エーテル：アセトン = 7 : 3）を底から 5 mm 程度になるように入れ、蓋をしっかりと閉めて気相を十分飽和させる。
- ④ TLC プレートの下端から 1.5 cm の所に鉛筆で軽

く印をつけ、これを原点とする。

⑤ 色素抽出液を毛細管に毛細管現象で吸い上げさせ、原点上に直径5~7mm程度になるように滴下し、数秒待って乾燥させる【図1B】。この操作を10回程度繰り返し、できるだけ均一に濃く塗布する。

### 薄層クロマトグラフィー(TLC)展開実験

⑥ 色素抽出液を塗布後、完全に乾燥させたTLCプレートを素早く展開槽に入れ、蓋をする。溶媒の液面が乱れないようにピンセットでそっと入れる【図1C】。

⑦ 溶媒前線がTLCプレート上端からおおよそ1cm位のところにきたら取り出す。

⑧ 鉛筆で直ちに溶媒前線の位置と各スポット位置をチェックする。色素スポットは時間とともに変色・退色していくので、TLCプレートを裏返し、ガラス面を上にして速やかに写真撮影する【図1D】。

以上で本実験の目的を達成可能だが、もし分光光度計を使うことができるなら、分離できた各色素の吸収スペクトルを測定し、生物資料集などの文献に掲載されているクロロフィルなどの光合成色素のスペクトルと比較して、色素を同定してみよう。

### 各スポットの吸収スペクトルの測定

⑨ TLC法により分離できた各色素のスポットを担体シリカゲルごと削り取り【図2A】、薬包紙上に回収する。マイクロチューブに移してジエチルエーテルを0.5mL添加し、ボルテックスミキサー等で十分に混和後、遠心分離して【図2B】上清を分光光度計のセルに入れる。

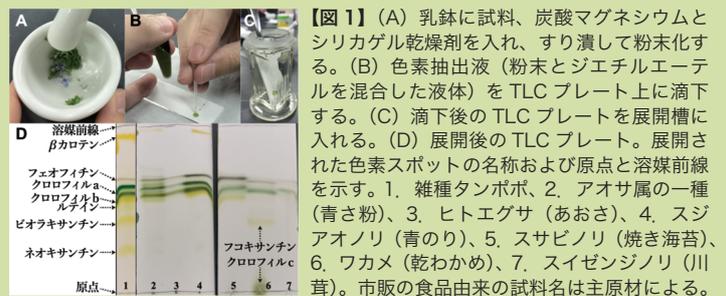
⑩ セルを分光光度計にセットし、400~700nmの範囲で吸光度を測定する【図2C】。

### 光合成色素の比較から生物進化を考える

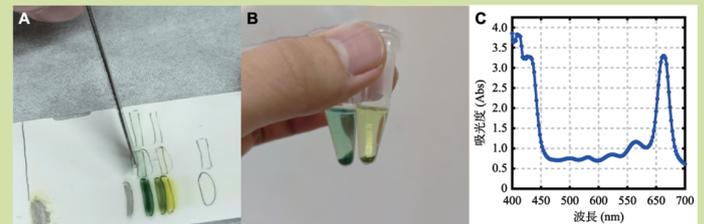
【図1D】のように光合成色素を分離できたら、各生物試料間でその分布を比較してみよう。

まず、鮮やかな緑色の色素クロロフィルに着目しよう。ほぼ全ての光合成生物の光エネルギー変換過程では、光化学系の反応中心に存在するクロロフィルaが重要な役割を果たす。実際、今回試した全ての生物はクロロフィルaを持つ。クロロフィルbはクロロフィルaと比べてわずかに親水性が高いため、クロロフィルaの真下にスポットが見える。クロロフィルcは、はるかに親水性が高いため、有機溶媒で展開してもほとんど移動せず、原点近くに検出される。

今回分析した中では、陸上植物(タンポポ)と緑藻



【図1】(A) 乳鉢に試料、炭酸マグネシウムとシリカゲル乾燥剤を入れ、すり潰して粉末化する。(B) 色素抽出液(粉末とジエチルエーテルを混合した液体)をTLCプレート上に滴下する。(C) 滴下後のTLCプレートを展開槽に入れる。(D) 展開後のTLCプレート。展開された色素スポットの名称および原点と溶媒前線を示す。1. 雑種タンポポ、2. アオサ属の一種(青さ粉)、3. ヒトエグサ(あおさ)、4. スジアオノリ(青のり)、5. スサビノリ(焼き海苔)、6. ワカメ(乾わかめ)、7. スイゼンジノリ(川茸)。市販の食品由来の試料名は主原材料による。



【図2】(A) 展開後のTLCプレートから色素を担体シリカゲルごと削りとり回収する。(B) マイクロチューブ内で回収した色素をジエチルエーテルと混合し、溶解させる。(C) 簡単な分光光度計で計測したクロロフィルaの吸収スペクトル。

(あおさ、青さ粉、青のり)がクロロフィルbを持つことが分かり、陸上植物の祖先は緑藻であることが類推できる。植物が陸上化する直前で分岐した生物は広義の緑藻のうちの接合藻類と考えられているので、池や水田などでアオミドロなどの接合藻類を見つけたら、採集して分析してみると良い。

葉緑体の起源と考えられているシアノバクテリア(スイゼンジノリ)と紅藻(焼き海苔)は、クロロフィルとしてはaのみを持つ。一方、クロロフィルcは、褐藻ワカメでのみ見られる。従って、光合成生物の進化の過程で、緑藻類はクロロフィルaに加えてbを、褐藻類はaに加えてcを獲得したことが類推できる。紙面の関係で本稿ではクロロフィルa~cに着目したが、各光合成生物はそれ以外にも様々な色素を使って太陽光からエネルギーを獲得しているため、TLCにより検出された他の色素についても調べてみよう。

本稿では簡単に入手可能な食材を中心に、様々な光合成生物の色素を分析できる簡単な実験法を紹介した。色素の抽出、分析の原理は、高校「化学」で学ぶ内容の簡単な応用で理解できるので、クロロフィルa~cなどの色素の分子構造を調べ、TLCにおける移動度との関係を考察してみよう。こうした簡単な実験から、生物の進化の不思議や、太陽エネルギーを活用できる植物の大切さに思いを馳せてみてはどうだろうか？

### 謝辞

実験の遂行や写真撮影では、東京理科大学 大学院創域理工学研究科 生命生物学専攻 朽津研究室の大学院生諸氏の協力を得た。