

植物葉緑体光合成膜が示す 3次元構造の顕微蛍光スペクトル分析

長谷川 慎¹, 椎名 隆², 寺嶋 正秀¹, 熊崎 茂一¹
 京大院・理¹, 京府大・人環²

[序]

植物葉緑体では効率よく光合成を行うためにチラコイド膜の一部が折れ重なってグラナ構造を形成することが知られている。葉緑体内部の微細構造解析では電子顕微鏡観察が重要な役割を果たしているが、我々は電子顕微鏡とは違った観点からチラコイド膜構造についての知見を得るべくラインスキャン二光子励起顕微分光装置を開発して観察を行った。この装置は低侵襲で高速に3次元全点で自家蛍光スペクトルを取得できるので、生体条件下でのチラコイド膜三次元構造と明反応系の分子状態の情報が取得できる。また励起光の偏光方向を変えた測定を行うことで分子配向の解析も行った。

サンプルとしては C4 植物であるトウモロコシの葉緑体について実験を行った。C4 植物では葉肉細胞と維管束鞘細胞で分担して光合成を行っており、それぞれの細胞の葉緑体には光化学系 I (系 I) と光化学系 II (系 II) の組成比など違いがある事が知られている。

[実験]

トウモロコシは研究室内で栽培したものを 7 mm 角に切り取り、スライド硝子とカバー硝子で水と一緒に封じたものを試料として用いた。この試料を二光子励起ラインスキャン顕微分光装置を用いて測定した (参考文献[1])。二光子励起は 805 nm、0.2 ps の近赤外パルスレーザーで行った。細胞中の同一領域をレーザーの偏光を 90 度変えながら測定して結果を比較した。

[結果]

昨年度の本討論会で報告したように、葉緑体の蛍光スペクトルには系 I と系 II 由来と帰属できる二つのスペクトル成分が存在する (図 1)。スペクトルの重ならない波長領域を選び、それぞれマッピングすると図 2 のようになった。(赤色領域は 665 nm ~ 681 nm を、遠赤色領域は 715 nm ~ 740 nm を選択)

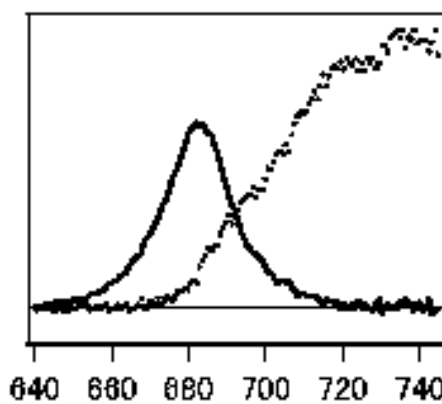


図 1 : 二つのスペクトル成分

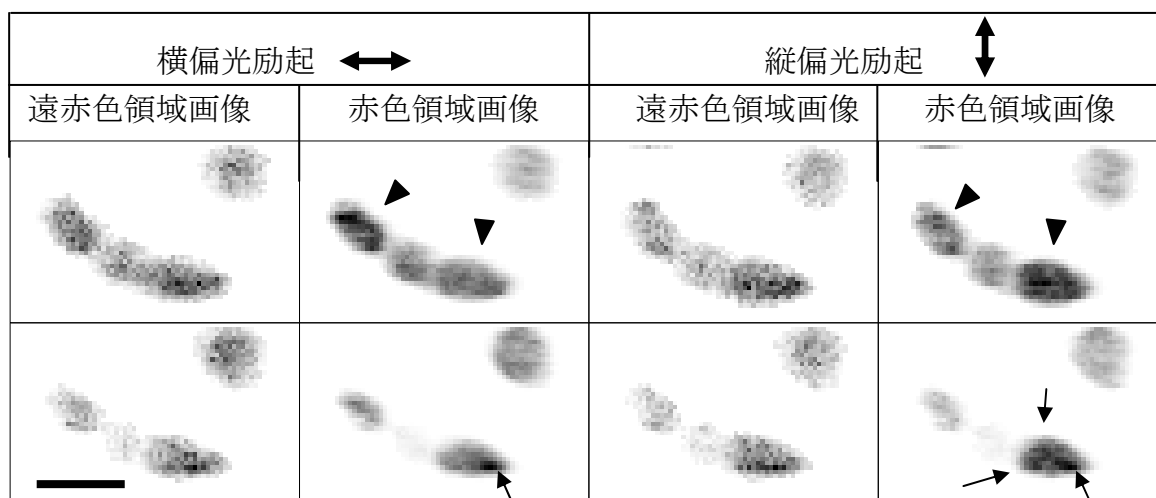


図2 同一葉肉細胞中の複数の葉緑体の波長偏光同時選択蛍光画像。光軸方向に $1.0 \mu\text{m}$ 離れた二つの断面を上下に表示。図中のスケールバーは $5 \mu\text{m}$ 。

[考察]

遠赤色領域画像ではあまり偏光依存性がみられなかったのに対し、赤色領域画像では比較的大きな偏光依存性がみられた。例えば上の断面で二つの葉緑体を比較すると[▶印を参照]、横偏光励起で左の葉緑体のほうが蛍光強度が強いのに対し、縦偏光励起では右の葉緑体のほうが蛍光強度が強い。また下の断面で一つの葉緑体の内部に注目すると[→印を参照]、横偏光励起では右端だけが強くなっているが、縦偏光励起では左側・上側も強くなっている。これらの結果は、系Ⅱが膜配向性の高いグラナ部分に集中していること、系Ⅰがグラナ中にほとんど存在しないこと、および葉緑体内で各グラナが異なった配向を示すという光合成膜形態モデルで説明できる。

また葉緑体内部の詳しいスペクトル解析の結果、前述の二つの成分以外の蛍光成分も存在が確かめられた。この成分は葉緑体全体の平均スペクトルでは確認困難で、全体では微量だが高解像のスペクトル顕微鏡で初めて確認可能な光合成膜の特殊な分子状態を示唆している。詳細な説明は当日行う。

[文献]

1) Shigeichi Kumazaki*, Makoto Hasegawa, Mohammad Ghoneim, Yugo Shimizu, Kenji Okamoto, Masayoshi Nishiyama, Hirozo Oh-oka† and Masahide Terazima, *Journal of Microscopy*, (2007), 228, 240—254.