

植物生理化学の研究と環境問題 (教育・総合科学学術院 櫻井英博)

● 植物生理化学の研究

(生理学:機能を研究. Physiology)

- ・高エネルギー化合物ATP合成の研究
- ・光化学系反応中心と電子伝達の研究
- ・リン酸輸送系、酸化ストレス、その他

● 環境問題

- ・自然保護運動とのかかわり
- ・環境保全センター、持続的未來研究所
- ・光生物的大規模水素生産の提案と研究

1960年代中頃の状況

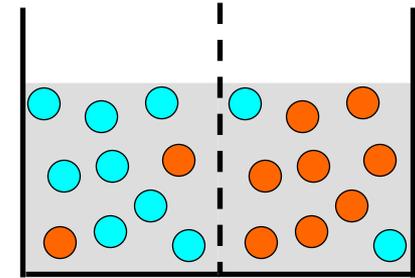
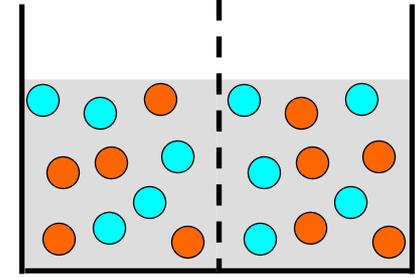
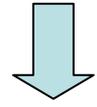
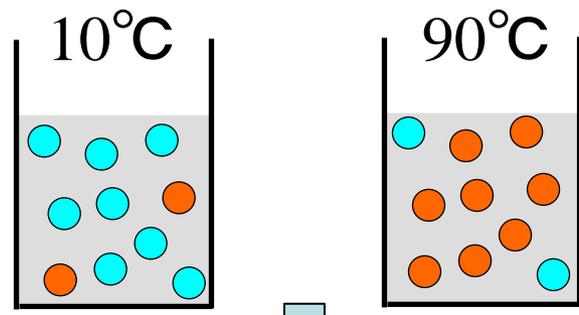
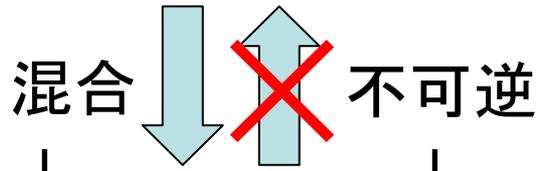
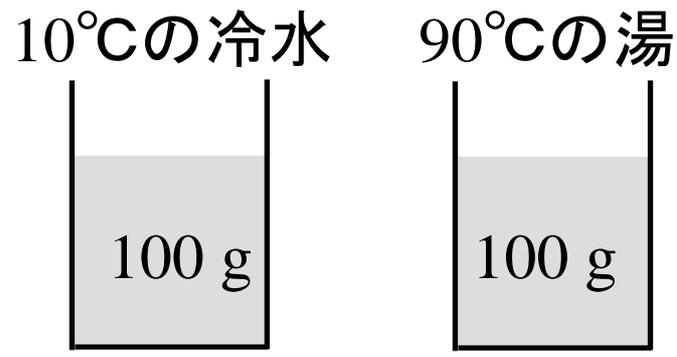
- ・1945 敗戦
- ・1950-53 朝鮮戦争
- ・1954 水爆実験
 - ・1955 大学入学
- ・1957 ソ連、スポーツニク打ち上
- ・1960 池田内閣所得倍増計画
- ・1964 生物学教室創立、東京オリンピック
- ・1965-70 いざなぎ景気
 - ・1965 大学院修了
 - ・1966 早稲田大学助手
- ・1968 学園紛争
- ・1969 アポロ月面着陸
- ・1970 大阪万博
- ・1971 環境庁設置
- ・1973 第一次オイルショック

- ・1ドル 360円
- ・1959 公務員月給(上級1種) 15,000円未満
- ・日本の1人当りGNP
 - 1960: 160,000円
 - 1965: 330,000円
 - 1970: 710,000円
 - 1975: 1,300,000円
 - 1990: 3,400,000円

- ・1952-54頃 光合成炭素同化経路(Calvinサイクル)
- ・1953 DNA二重らせんモデル(Watson-Crick)
- ・1954 光リン酸化(Arnon)
- ・1955 タンパク質(インスリン)のアミノ酸配列決定(Sanger)
- ・1960 タンパク質(ミオグロビン)の立体構造決定(Kendrew-Perutz)
- ・1961 化学浸透説(Mitchell)

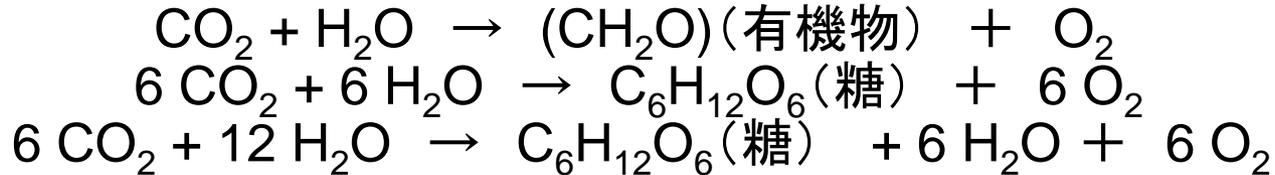
生物には物理・化学法則に上乗せした法則があるか？統計力学がモデル：微視的にはニュートン力学に従うものが、巨視的には(集団となると)新たな秩序を生む

【統計力学、熱力学の基礎】



光合成 (photosynthesis)

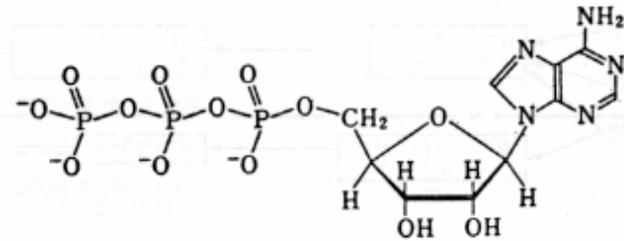
(生物による光エネルギーの化学エネルギーへの変換)



1. 光合成色素(クロロフィルなど)による光吸収、色素の励起
2. 光化学反応中心(RC)における光化学反応、光エネルギーの酸化還元エネルギー(化学エネルギー)への変換
3. RCにつながる電子伝達体の酸化還元、還元物質NADPHの生成、 O_2 の発生(H_2O の分解による)(光合成電子伝達系)
4. 電子伝達に共役した H^+ 駆動力の形成、ATP合成酵素による高エネルギー物質ATPの合成(光リン酸化)
5. CO_2 の同化(還元物質NADPHと高エネルギー物質ATPを利用)

ATP: エネルギー変換 の通貨 (エネルギー変換の要)

(Adenosine Tri-Phosphate)



ATP合成: リン酸化

● 化学浸透説 (H^+ 勾配)

・酸化リン酸化 (ミトコンドリア、細胞呼吸): (Oxidative phosphorylation)

・光リン酸化 (光合成生物) (Photophosphorylation)

・硝酸呼吸、鉄の酸化 (化学独立栄養細菌)

・メタン発酵 (メタン生成細菌)

● 化合物のエネルギー落差

・乳酸発酵 (乳酸菌)

・アルコール発酵 (酵母)

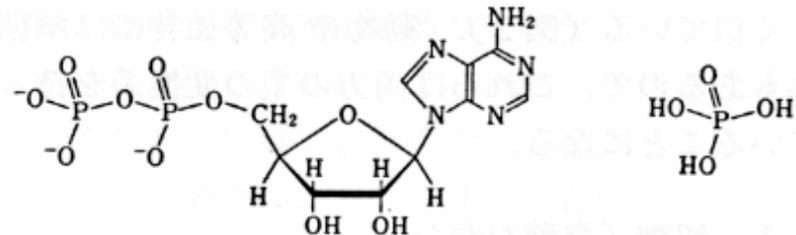
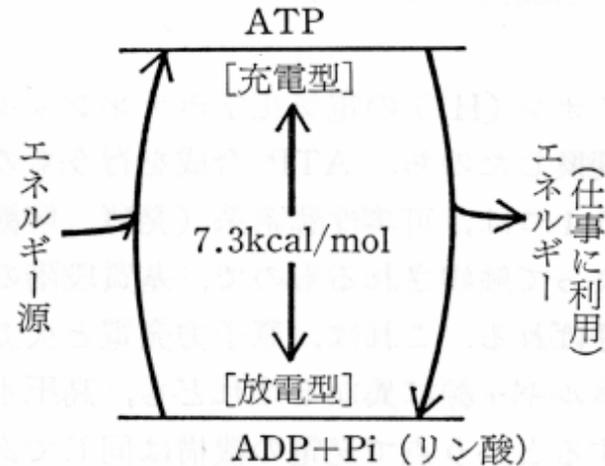


図1 ATP とエネルギー

ADP+Pi を ATP に変換するためには、7.3 Kcal/mol のエネルギーの供給が必要である。逆に ATP を加水分解すると、7.3 Kcal/mol のエネルギーを放出するので仕事に利用できる。

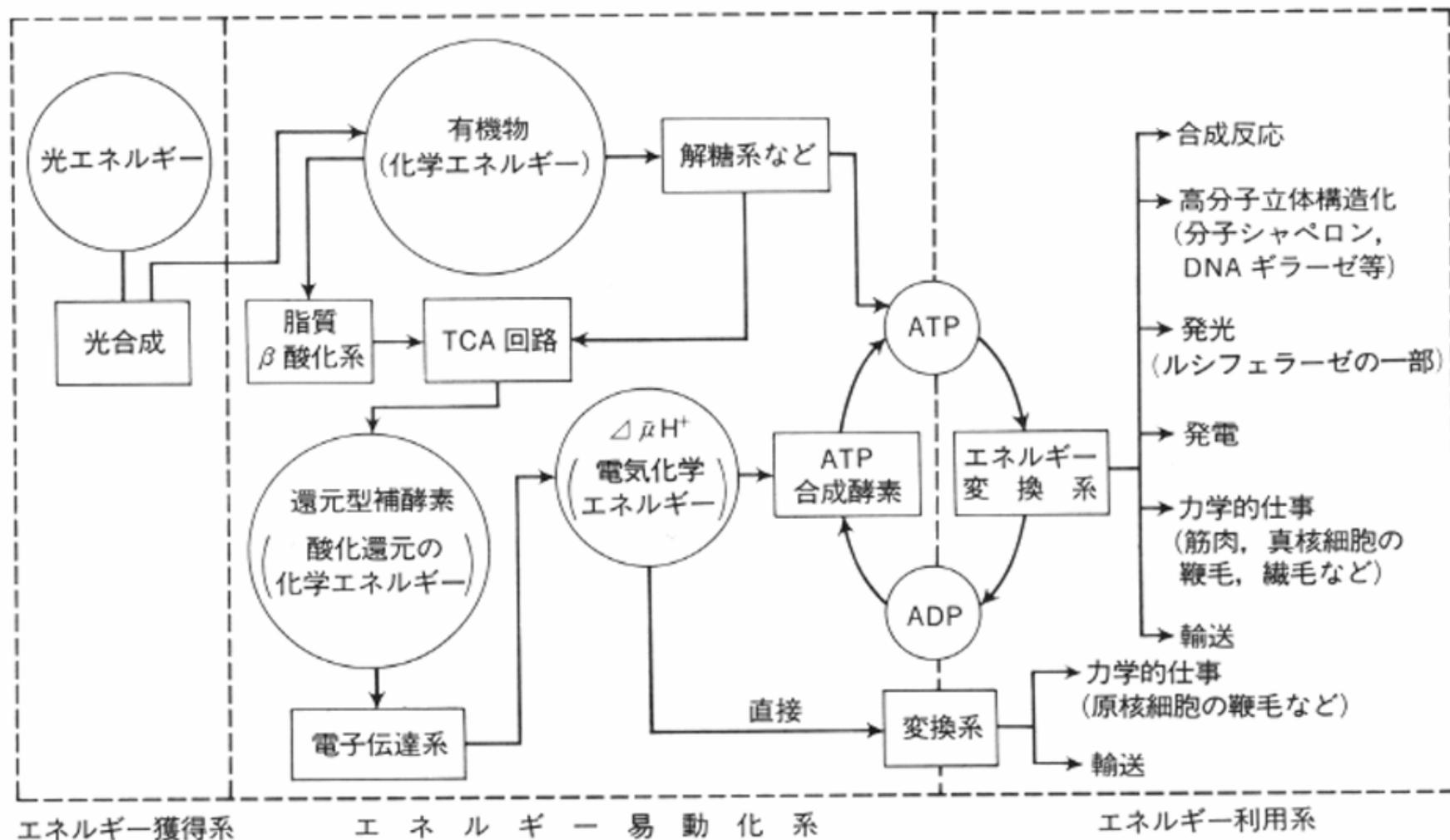


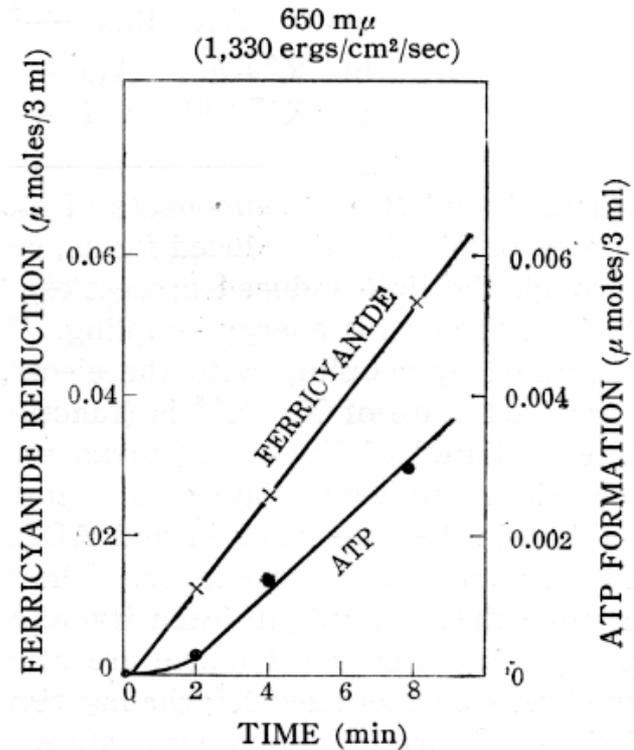
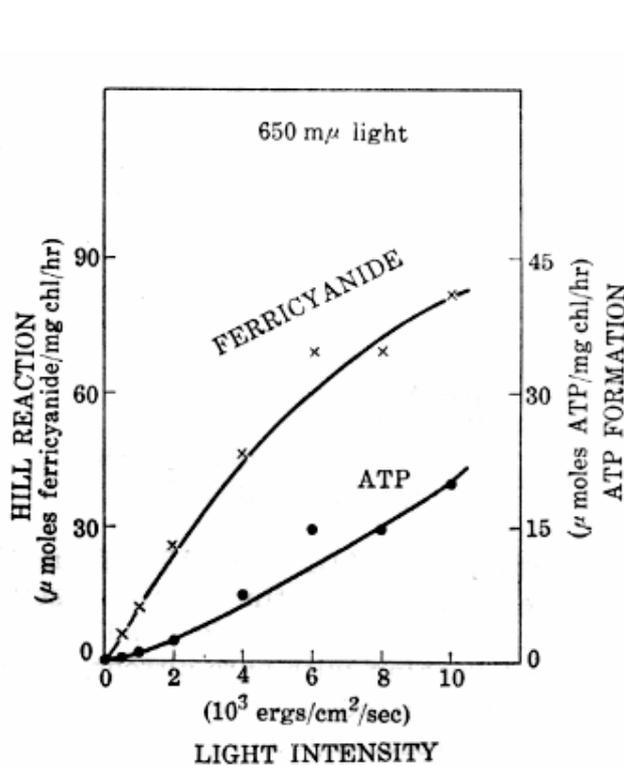
図 5-1 生物界におけるエネルギー変換

(1) Light intensity effect: Y.K. Shen, G.M. Shen (1962) Studies on Photophosphorylation. II. The “light intensity effect” and intermediate steps of photophosphorylation. *Scientia Sinica*, 11: 1097-1106

(2) Time lag: J.S. Kahn (1962) Evidence for a lag period In photosynthetic phosphorylation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 98: 100-103

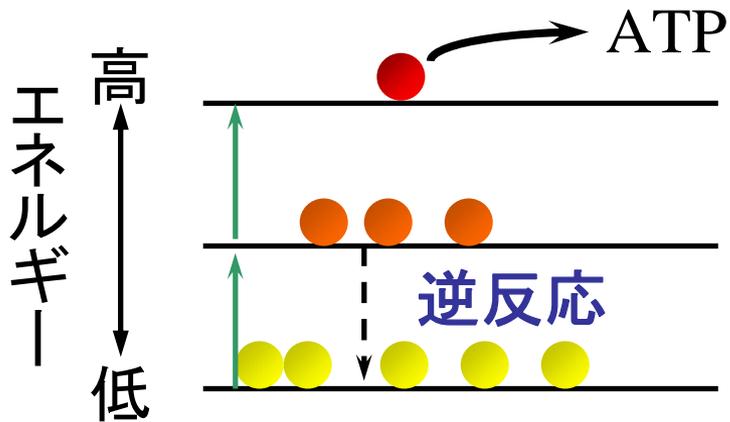


Y.K. Shen
(1997)

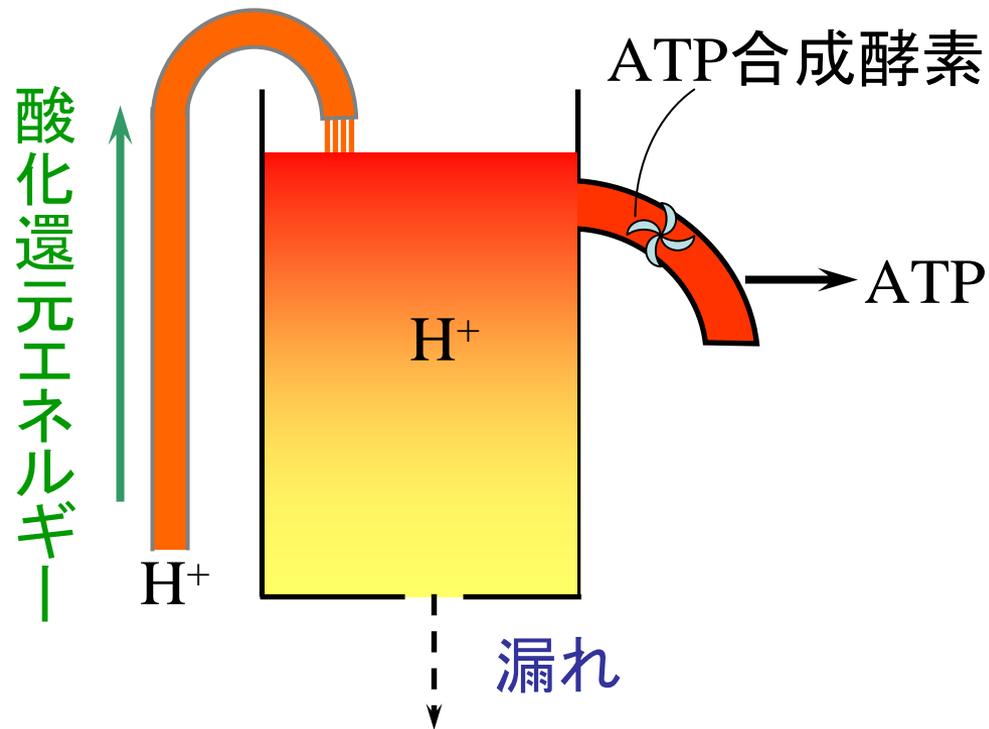


Light intensity effect (光強度効果、
弱光下で効率が低い)

Time lag (時間的遅れ)



二段階エネルギー化説



化学浸透説

化学説(アルコール発酵などはこの方式)からの化学浸透説に対する批判的見解

- ・エネルギーを拡散させてしまうのではないか

ATPの化学結合の長さは0,15 nm程度⇔ミトコンドリア膜の厚さは10 nm程度

STUDIES ON PHOTOPHOSPHORYLATION

I. TWO-STEP EXCITATION KINETICS OF PHOTOPHOSPHORYLATION¹

HIDEHIRO SAKURAI, MITSUO NISHIMURA AND ATUSI TAKAMIYA

Department of Biophysics and Biochemistry, Faculty of Science, University of Tokyo, Tokyo

(Received December 28, 1964)

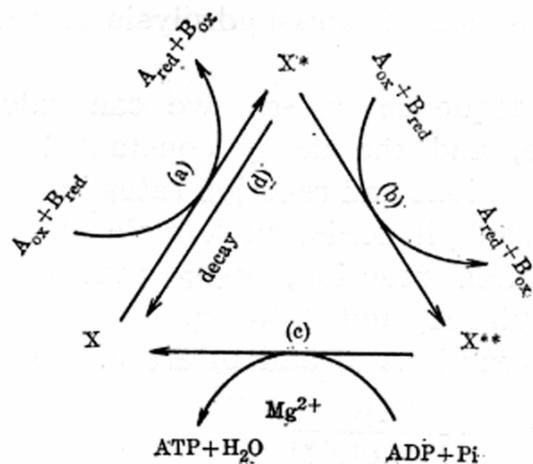


Fig. 5. Schematic explanation of the reaction sequence of ATP formation.

$$\begin{aligned}
 \text{ATP}_t &= \int_0^t \frac{q[X^*]v_e}{[X] + q[X^*]} dt \\
 &= \int_0^{[X^*]_t} \frac{q[X^*]v_e}{[X] + q[X^*]} \cdot \frac{[X] + q[X^*]}{-k_3(q-1)[X^*]^2 - b[X^*] + v_e[X]_0} d[X^*] \\
 &= -\frac{1}{k_3(q-1)} \log_e \left\{ \left| \frac{[X^*]_t - \alpha}{\alpha} \right|^E \cdot \left| \frac{[X^*]_t - \beta}{\beta} \right|^F \right\} \quad (9)
 \end{aligned}$$

where,

$$E = \frac{\alpha q v_e}{\alpha - \beta},$$

$$F = \frac{-\beta q v_e}{\alpha - \beta}$$

($[X^*]_t$: concentration of X^* at time t).

生体膜におけるATP合成機構：化学説と化学浸透説

1961 光リン酸化の研究

1965 Two-step
excitation kinetics

- ・葉緑体の膜を酸性の液につけておく
- ・しばらくすると内部の H^+ 濃度が上昇
- ・外部pHを急に上げると、内外の H^+ 濃度差がエネルギー源となりATP合成

1961 P. Mitchell 化学浸透説

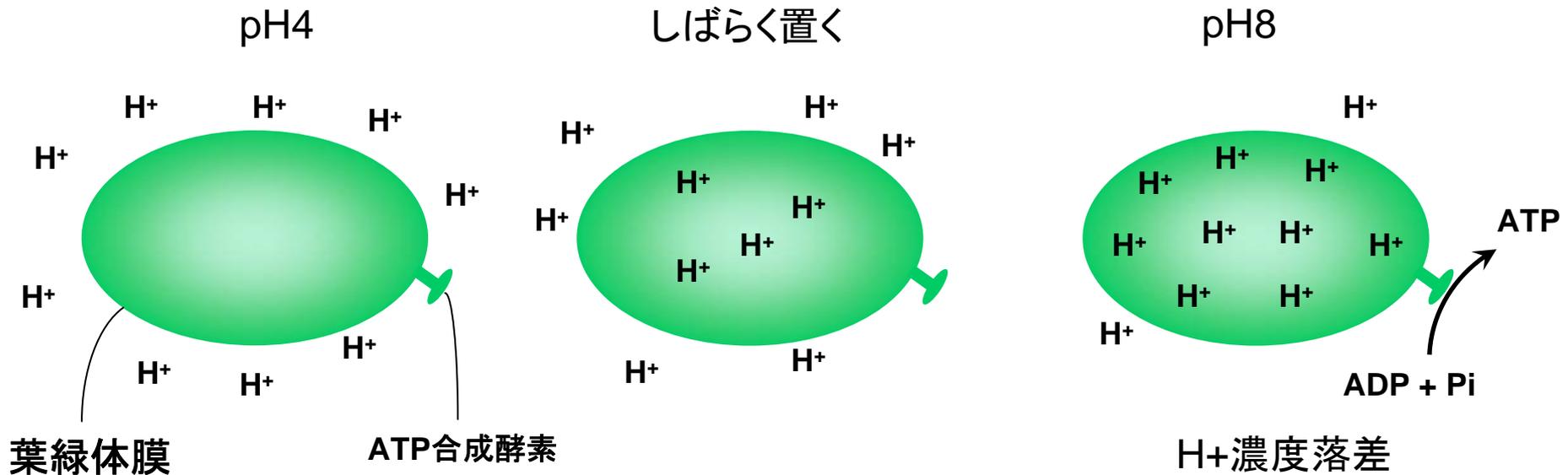
1963 Hind and Jagendorf

前照射によるリン酸化されていない高エネルギー中間状態の存在

1966 Uribe and Jagendorf

pHジャンプによるATP合成

1978 P. Mitchell ノーベル化学賞



Department of Biology, Indiana University, (Chicagoの南東400km)
Bloomington: 大学街、住民3万人+学生3万人、日本人留学生: 90名

生物学教室

教員: 40-50名

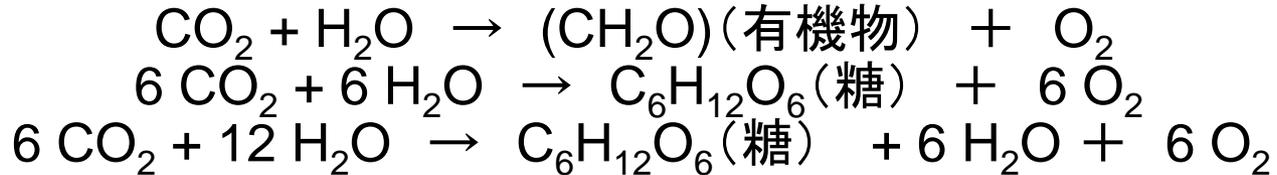
学生:

1学年400人

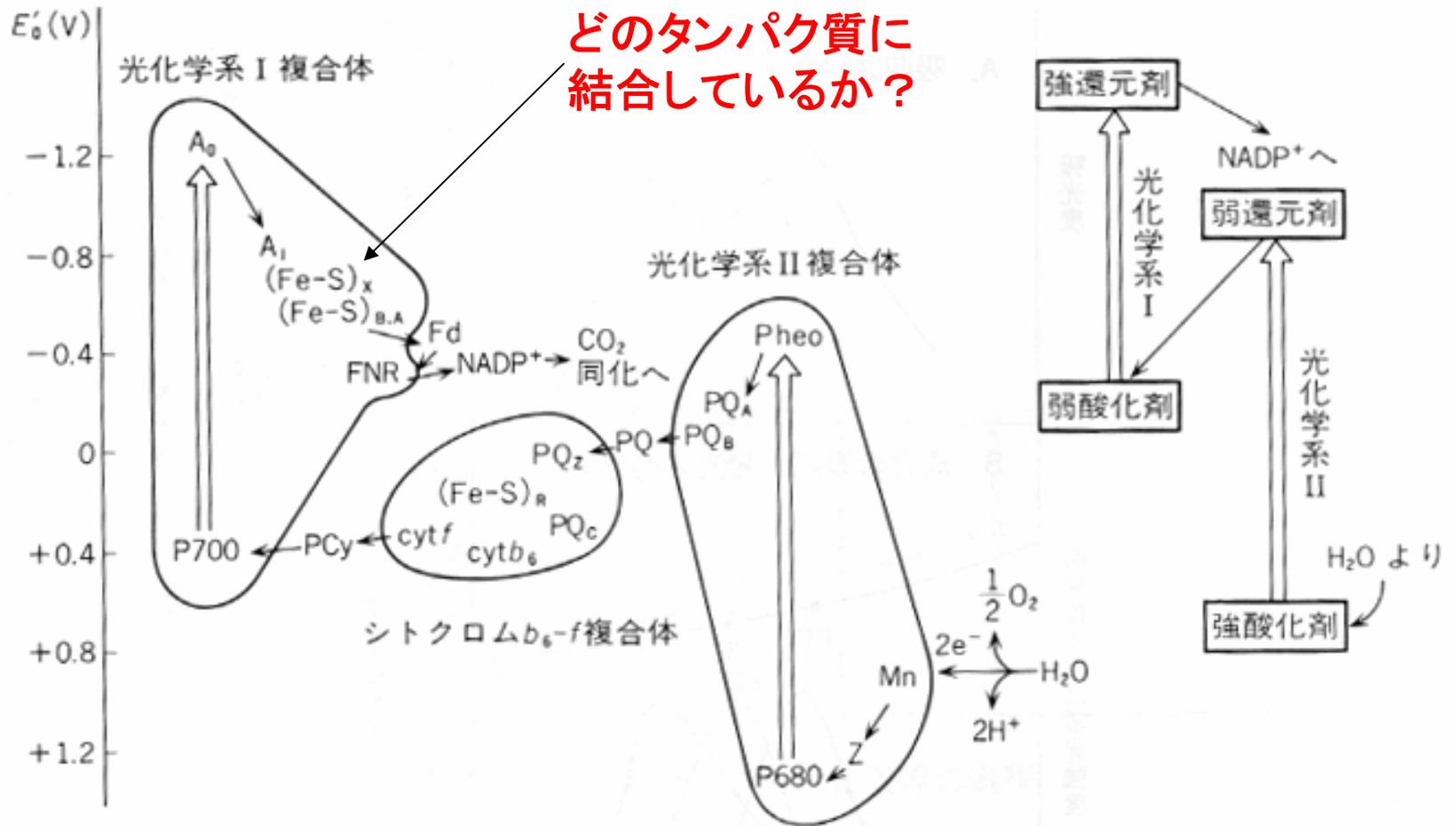


光合成 (photosynthesis)

(生物による光エネルギーの化学エネルギーへの変換)



1. 光合成色素(クロロフィルなど)による光吸収、色素の励起
2. 光化学反応中心(RC)における光化学反応、光エネルギーの酸化還元エネルギー(化学エネルギー)への変換
3. RCにつながる電子伝達体の酸化還元、還元物質NADPHの生成、 O_2 の発生(H_2O の分解による)(光合成電子伝達系)
4. 電子伝達に共役した H^+ 駆動力の形成、ATP合成酵素による高エネルギー物質ATPの合成(光リン酸化)
5. CO_2 の同化(還元物質NADPHと高エネルギー物質ATPを利用)



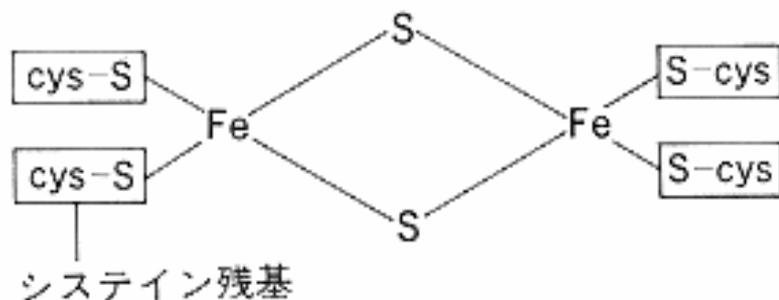
どのタンパク質に結合しているか？

図 6-9 光合成の電子伝達系 (右側は概念図)

Mn : タンパク質に結合したマンガン, Z : 反応中心のクロシン残基, Pheo : フェオフィチン, PQ : プラストキノン, Fe-S : 鉄-硫黄クラスター, PCy : プラストシアニン, A₀ : 初発電子受容体, A₁ : 二次電子受容体, Fd : フェレドキシン, FNR : Fd-NADPレダクターゼ.

鉄-硫黄タンパク質フェレドキシンの性質

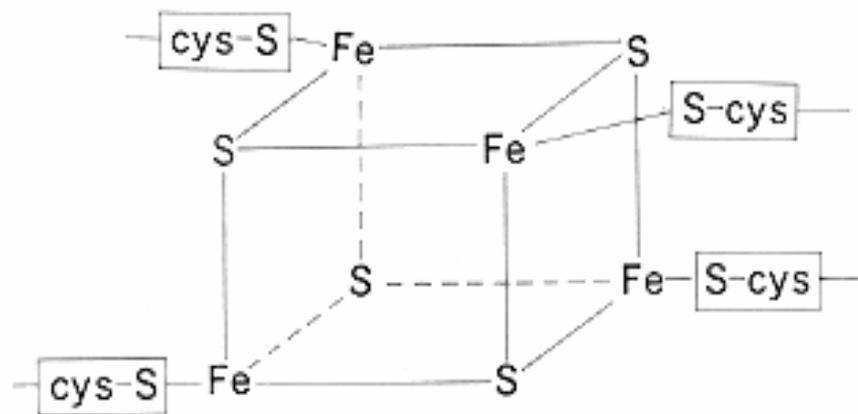
- ・クラスター破壊によりゼロ価の硫黄 (S^0) を生じ、後者はタンパク質に共有結合している $-cys-S-(S)_n-S-cys-$



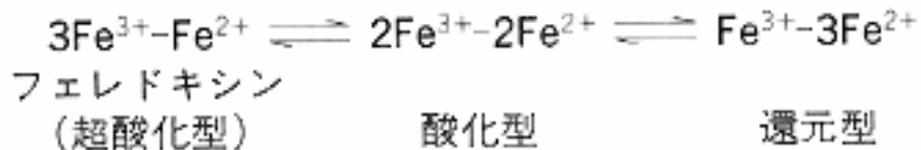
藻類-高等植物型フェレドキシン (2Fe-2S型)



酸化型* 還元型 (超還元型)



細菌型フェレドキシン (4Fe-4S型)
高ポテンシャル Fe-S タンパク質



情報格差(日米間)

日本

1977 論文別刷り請求(各人。入手までに1-2か月)

図書: 図書館発行の紹介状を持って先方に赴き、複写

1991 情報Biosisに国際電話でアクセス、1件の検索に1500円程度
Current Contents: 紙ベース
(1週間に5,000篇以上の論文、著者、表題、出典を収録)

2000年頃より

Web of Science導入

米国

1977 論文別刷り請求(事務所がやってくれる)

図書: 大学間の貸し借り

1991 情報Biosisアクセス権を学科で所有
Current Contents: CD-ROM

キャンパス通学路



Apartment: Campus View

Anthony and Alice
San Pietro



大学の戦略的(strategic)運営

(多くの大学がDirector of Strategic Planning and Assessmentを置く)

研究の奨励(個人)

多くの面で教員間に差がある
(学科主任の裁量⇔自身も業績が
評価される)

(獲得研究費の額にかなり依存)

- ・年俸
- ・研究室面積
- ・講義負担
- ・夏休み中の2か月分の給料を自身に対し支払い可能

研究の奨励(学科・国も)

研究費の天引き30-50% 大部分は学科へ
(over-head: 間接経費)



- ・人件費(事務員、図書館)
- ・大学院生奨学金
- ・共通機器の維持管理
- ・その他

Prof. R.K.
Togasaki



教育の質の確保

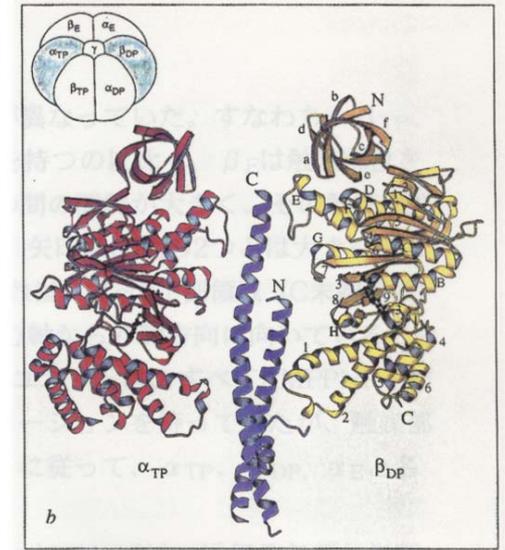
研究ばかり重視 ⇔ 学生による授業評価、外部評価、大学間比較

(すぐれた大学教科書)。 昇進: 研究、教育、社会的貢献

葉緑体ATP合成酵素の研究

(1978-2000頃)

(共役因子、H⁺-ATPaseの酵素部分)

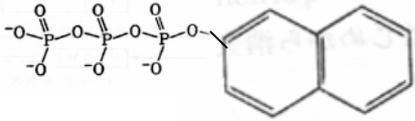


- A. ナフチルリン酸がリン酸やADPと競合する
(競合阻害) 篠原健司、山岸倫也、(理工)浅井博、藤崎
- B. ATP分解活性の有機溶媒による活性化
篠原健司、久堀徹、(理工)篠原邦夫
- C. ヌクレオチド結合による吸収スペクトル変化
田中都、久堀徹、(理工)千葉司、鈴木英雄、(東工大)吉田賢介
- D. テントキシン(特異的阻害剤(毒物))の作用様式
根本弘、太田嘉則、吉岡達也、久堀徹、持丸真里、斉藤勇仁、笹尾明央
- E. 関連分野
松原俊雄、吉岡達也、岩島初穂、鯨岡健、細田哲也

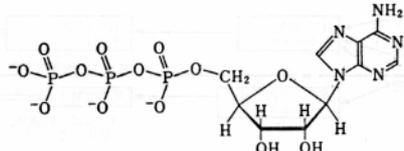
篠原健司(国立森林総研研究領域長) 葉緑体ATPアーゼに対する有機リン酸化合物の影響



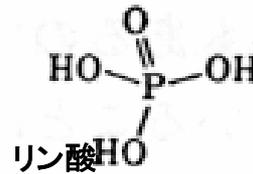
内分泌攪乱物質
(ビスフェノール A, ノ
ニルフェノール, フタル
酸エステル, DDT など)



ナフチルリン酸



ATP



リン酸

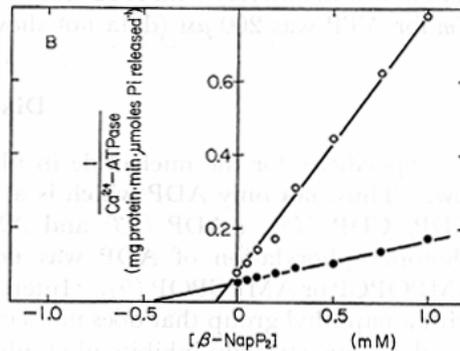
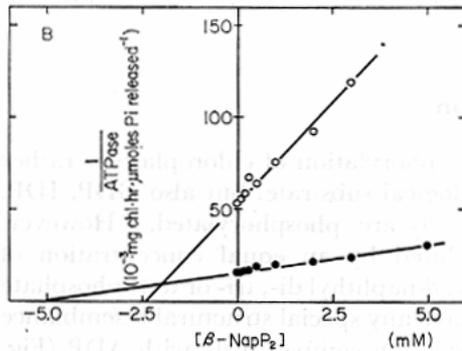
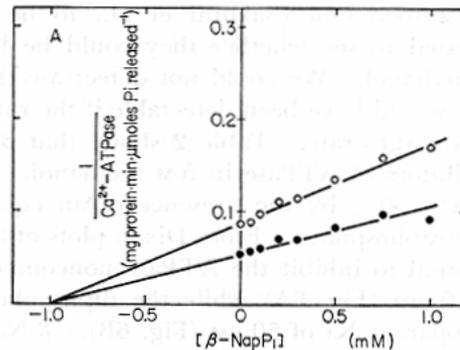
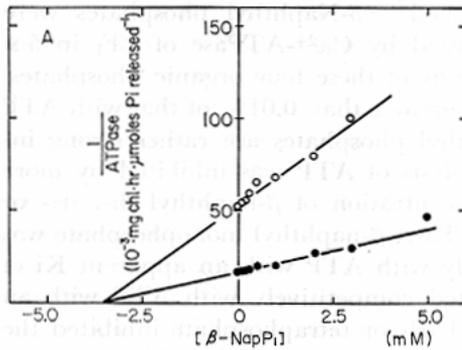
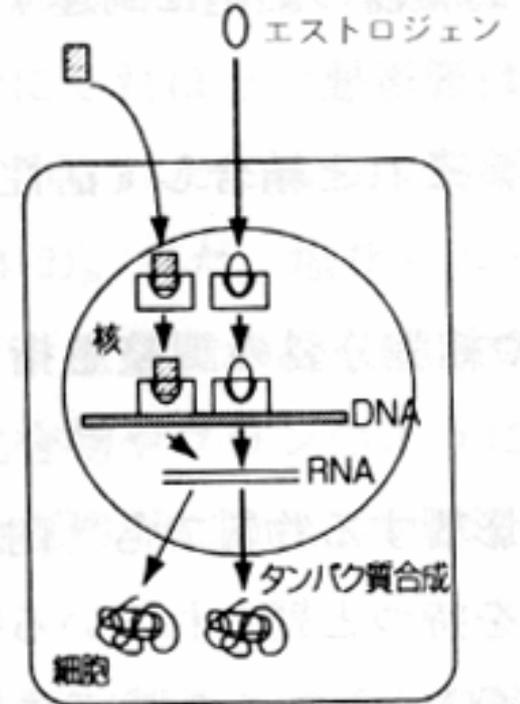


Fig. 5.

Fig. 6.



エストロゲン類似作用のメカニズム
内分泌攪乱物質がエストロゲン
レセプターと結合することによっ
てエストロゲンと類似の作用が
もたらされる。

久堀徹(東京工業大学助教授)

葉緑体ATPアーゼのヌクレオチド結合部位に関する研究

酵素作用では反応する物質(基質)が酵素に一時的に結合する
結合の部位を紫外外部吸収変化から調べる事が出来る

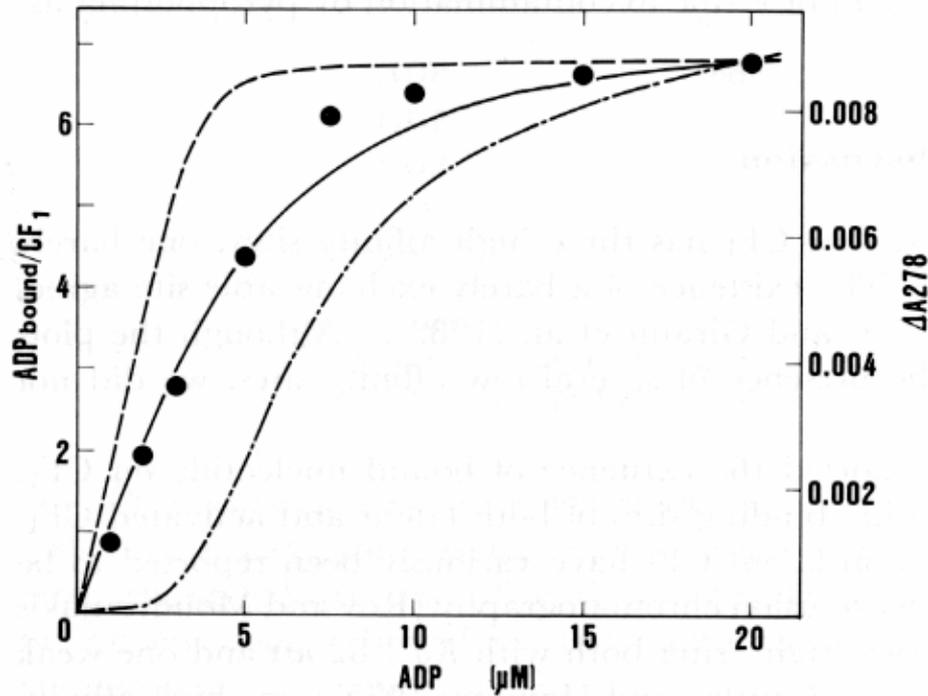


Fig. 6

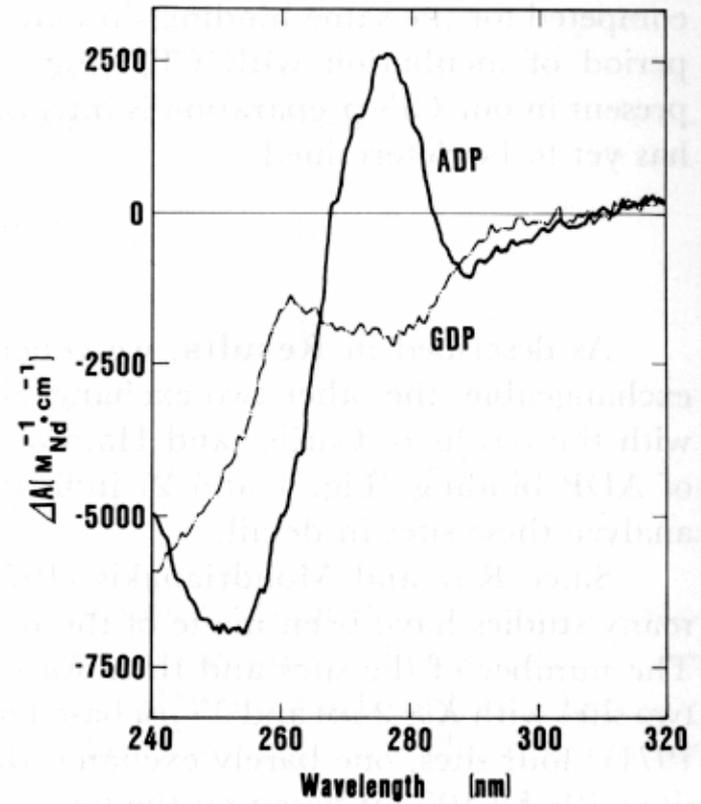
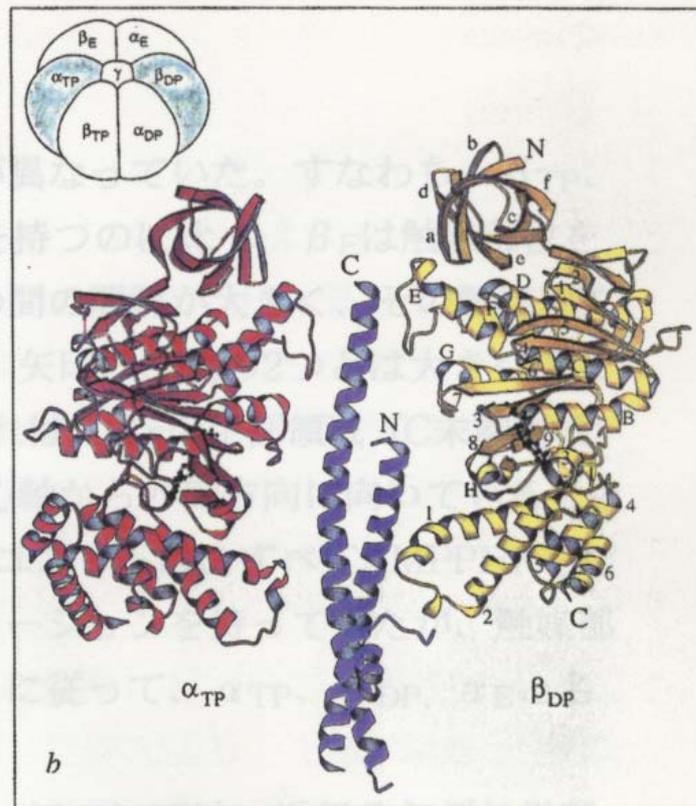
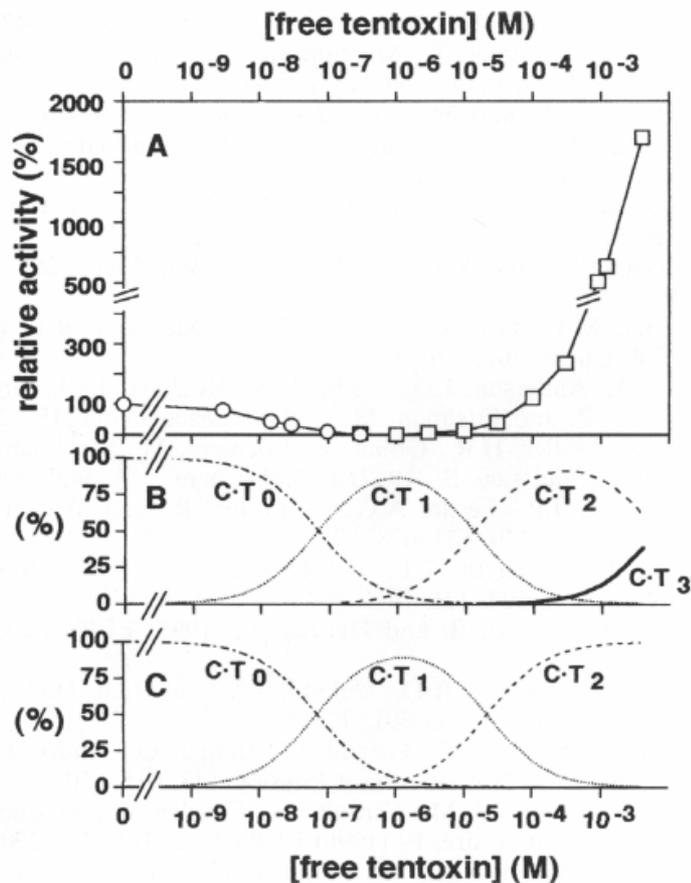


Fig. 7

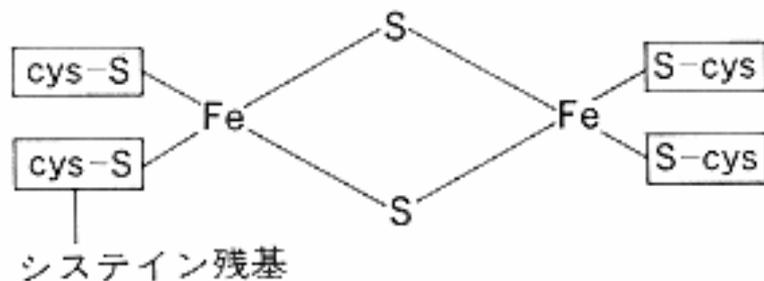
持丸真理(駒澤大学助教授) テントキシン(特異的阻害剤(毒物))の作用様式 酵素作用の機構、調節に関する手がかりが得られる

実験結果は、結合部位が3個あると仮定するとうまく説明できる



鉄-硫黄タンパク質フェレドキシンの性質

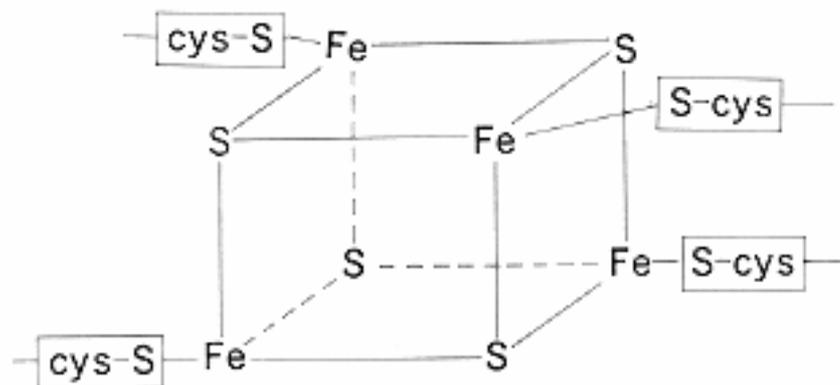
- ・クラスター破壊によりゼロ価の硫黄 (S^0) を生じ、後者はタンパク質に共有結合している $-cys-S-(S)_n-S-cys-$
- ・酸素感受性：活性酸素(スーパーオキシド(O_2^-))
- ・水銀化合物による破壊



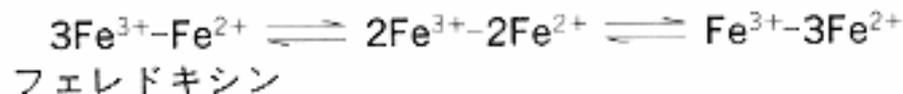
藻類-高等植物型フェレドキシン (2Fe-2S型)



酸化型* 還元型 (超還元型)



細菌型フェレドキシン (4Fe-4S型)
高ポテンシャル Fe-S タンパク質



フェレドキシン (超酸化型) 酸化型 還元型

光化学系Iの研究(1977-1995頃)

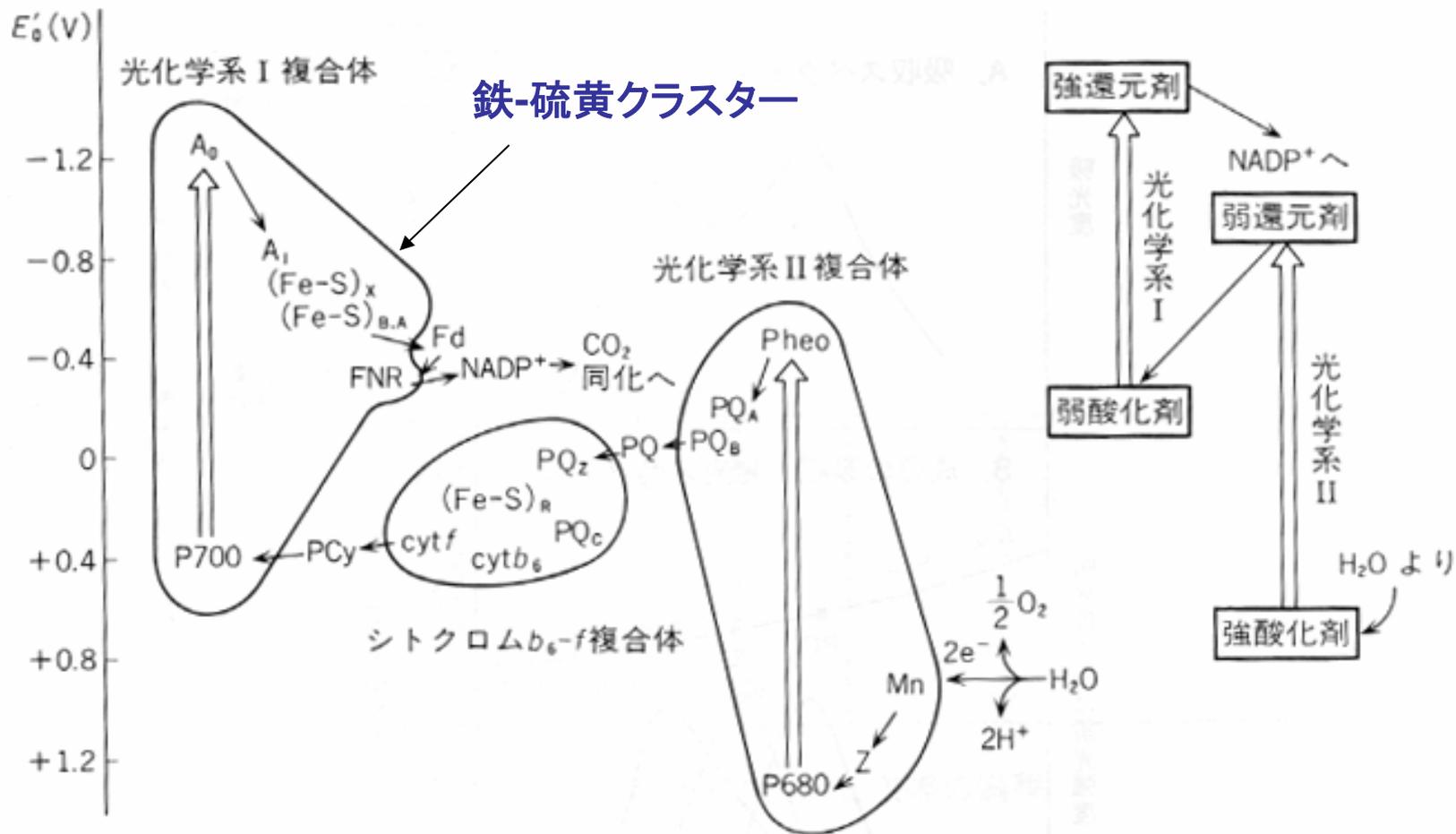


図 6-9 光合成の電子伝達系 (右側は概念図)

Mn : タンパク質に結合したマンガン, Z : 反応中心のクロシン残基, Pheo : フェオフィチン, PQ : プラストキノン, Fe-S : 鉄-硫黄クラスター, PCy : プラストシアニン, A_0 : 初発電子受容体, A_1 : 二次電子受容体, Fd : フェレドキシン, FNR : Fd-NADP レダクターゼ.

光化学系Iを中心とする研究 (1978-2000頃) (鉄-硫黄タンパク質フェレドキシンの性質を参考に)

- A. クラスタ破壊によりゼロ価の硫黄 (S^0) を生じ、後者はタンパク質に共有結合している $-cys-S-(S)_n-S-cys-$
(A. San Pietro, S. Lien)
- B. 光合成生物の鉄-硫黄クラスター (EPR測定)
大塚隆、(埼玉大) 檜山哲夫、(基礎生物学研究所) 藤田善彦、村上明男、伊藤繁
- C. 酸素感受性: 活性酸素 (スーパーオキシド (O_2^-), 酸化ストレスに関連)
井上和仁、横山英一、(埼玉大) 檜山哲夫、(基礎生物学研究所) 藤田善彦、松浦克美
- D. 水銀化合物による破壊
小島靖夫、藤井力、(埼玉大) 檜山哲夫

井上和仁 (神奈川県大学教授、東京大学客員教授)

葉緑体光化学系I周辺の光失活に関する研究

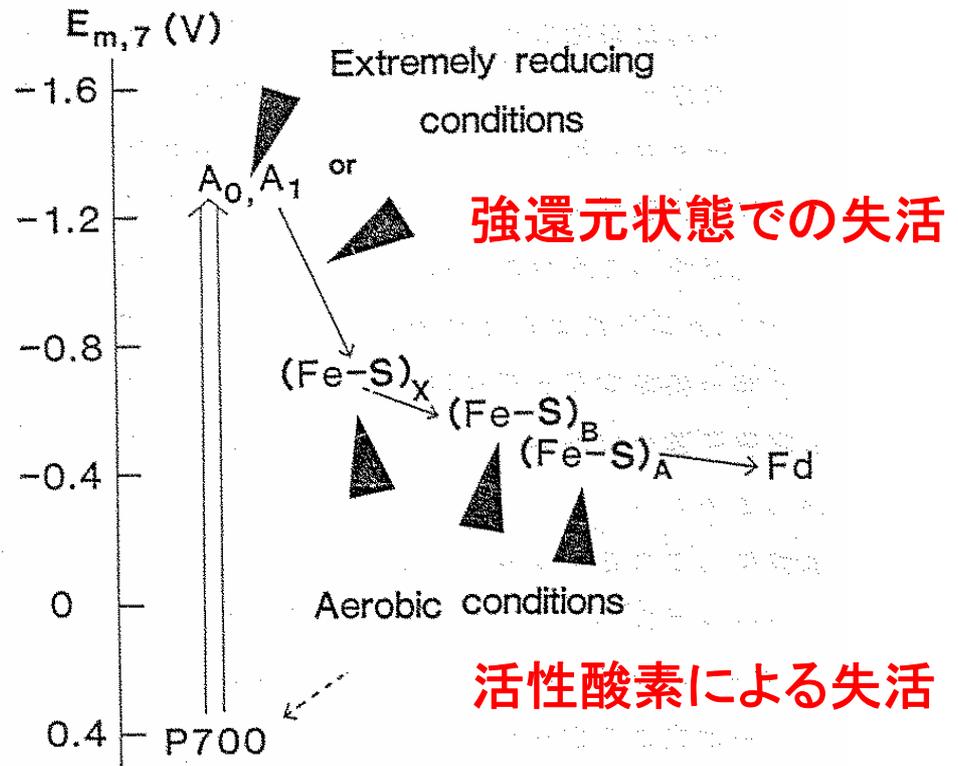
植物は光合成で酸素を発生する。

条件によっては酸素が活性酸素になり、植物に害を及ぼす(酸化ストレス)

O_2^- (スーパーオキシド)

植物は酸化ストレスに対する複雑な防御機構を発達させている(アスコルビン酸、カロテンなど)

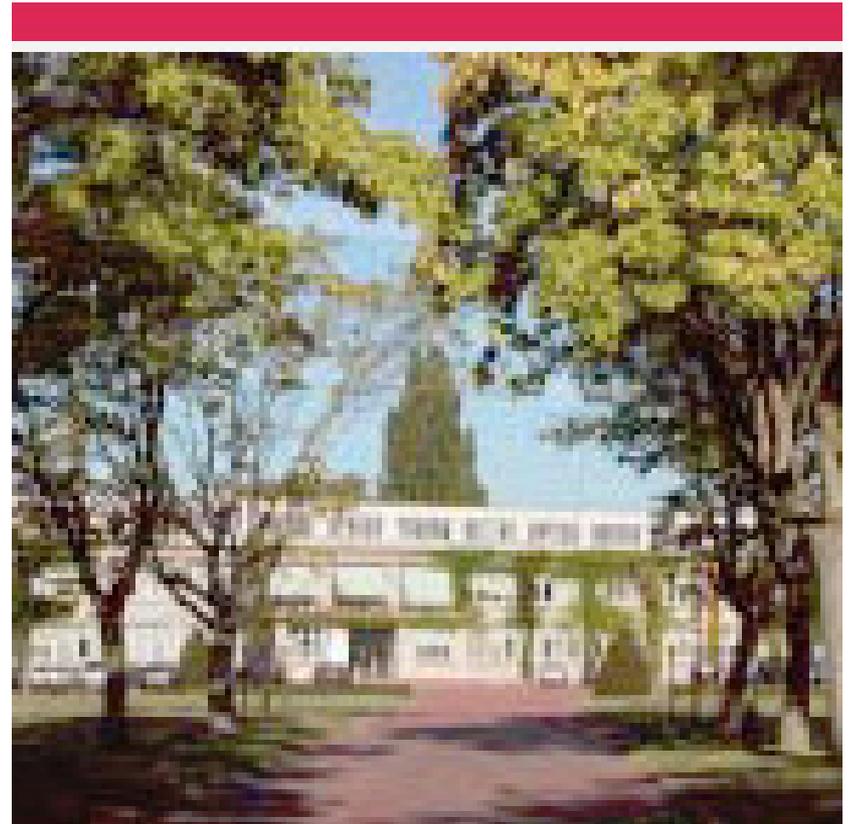
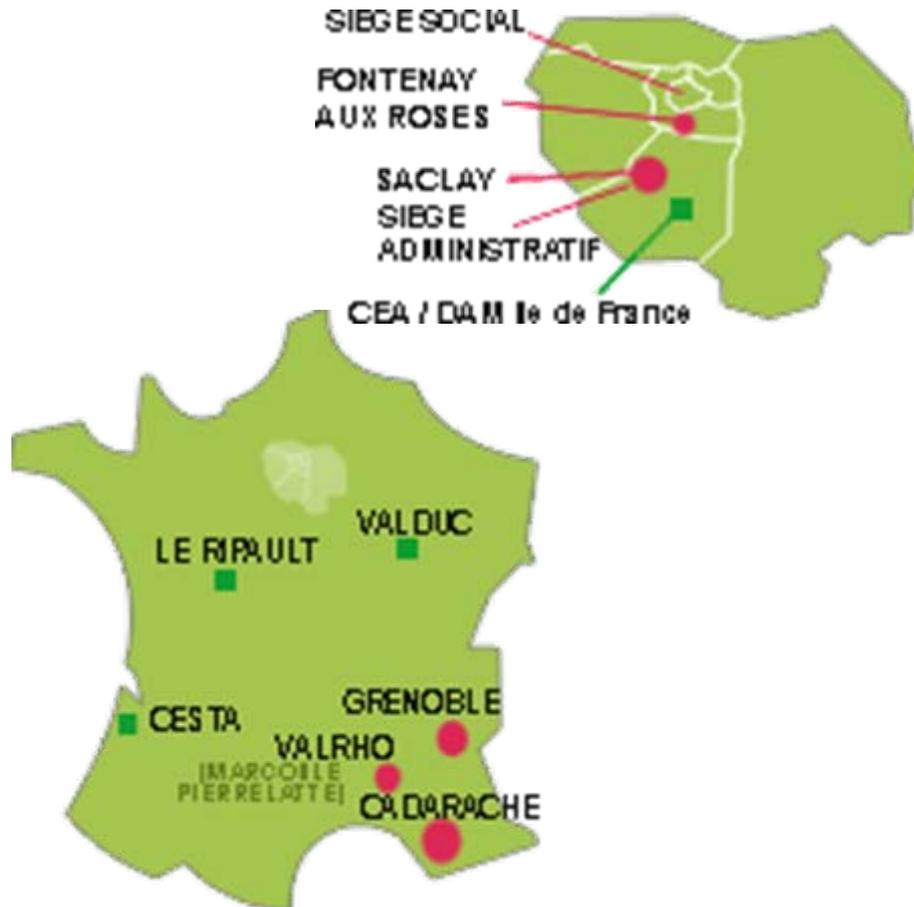
Sites of photoinhibition around PS I



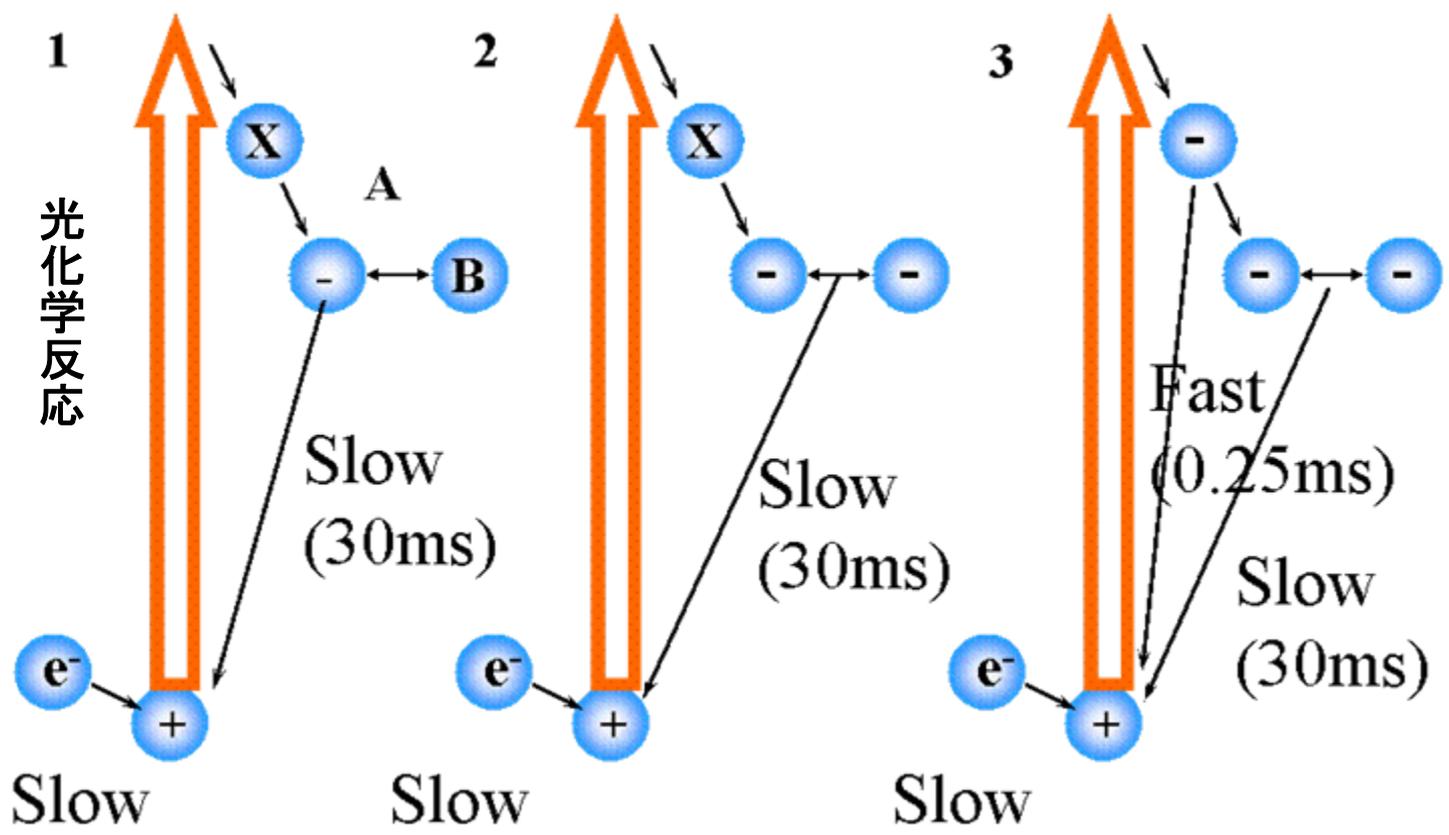
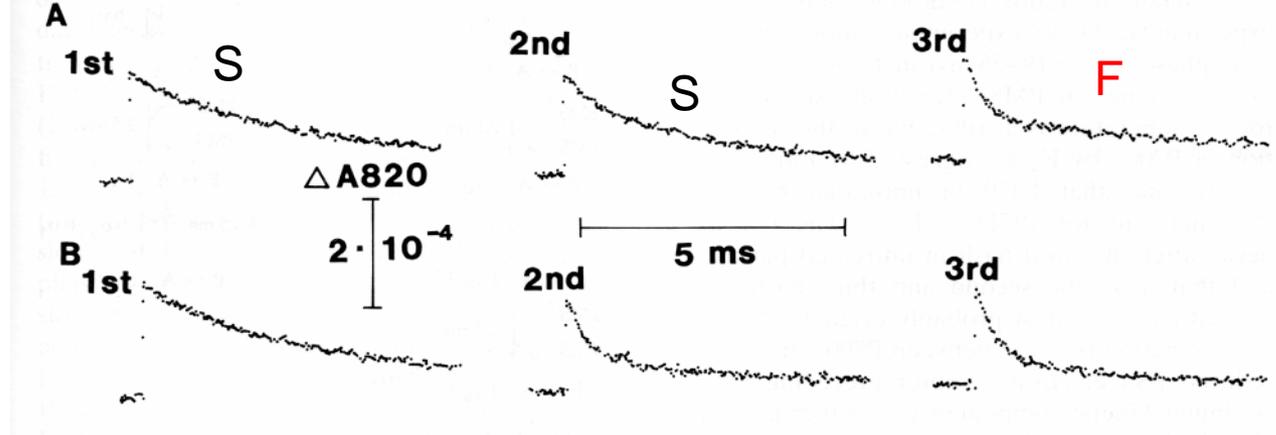
フランスとの共同研究 (Saclay研究所、原子力エネルギー委員会)

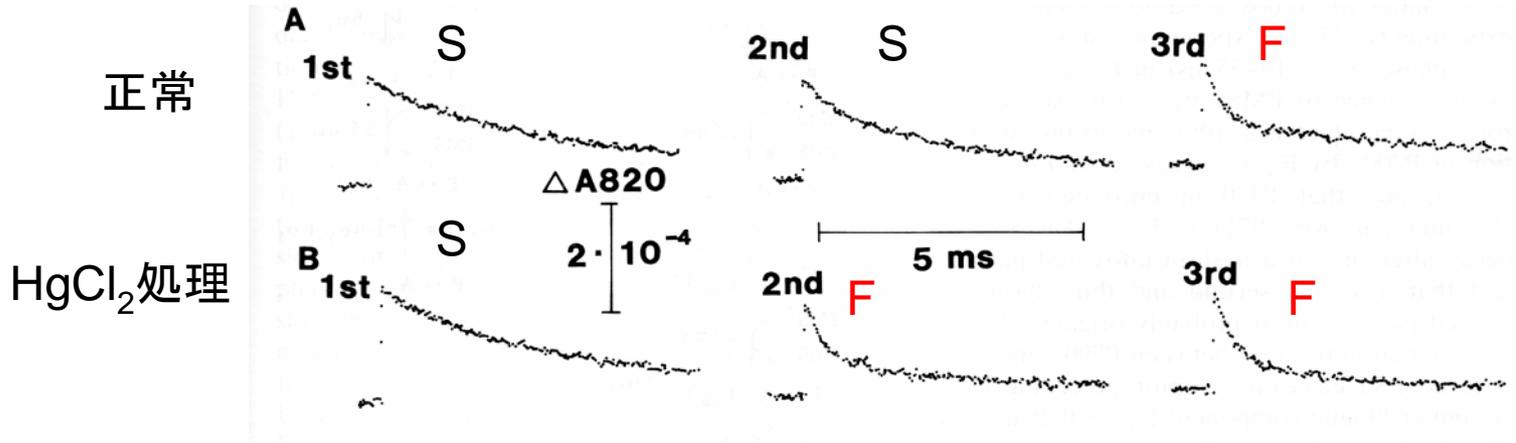
Le centre CEA de Saclay compte environ 5 000 personnes :

- 3500 salariés CEA, • 300 thésards et post-docs
- 500 collaborateurs scientifiques (CNRS, INSERM.)
- 700 salariés d'entreprises extérieures

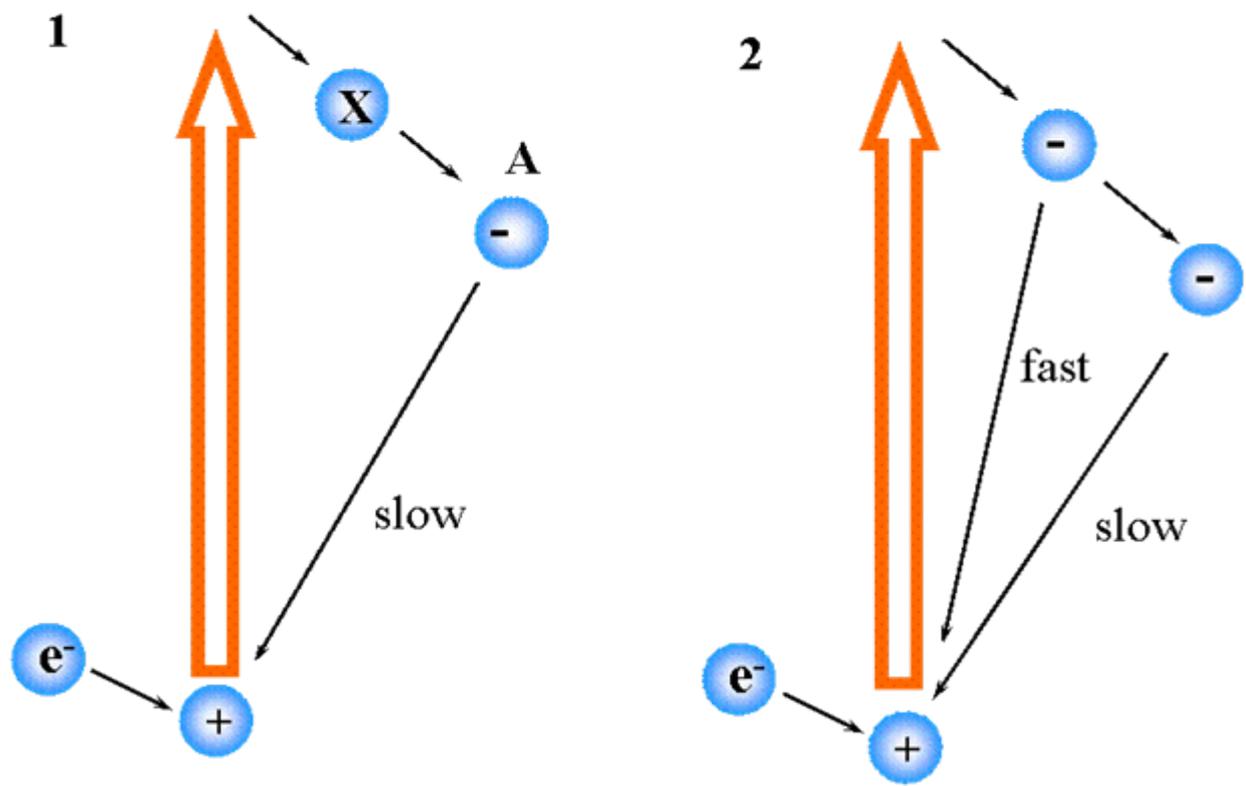


Sauer, K., Mathis, P. et al. (1978)





FeS_BのHgCl₂による破壊



Bon! (Good!)

Je suis heureux (I am happy)



Grenoble研究所 (Prof. P. Vignais, P. Vignais) (1989)



学生気質

- ・米国: 教員は顧客(学生)の要求を満足させるべき存在
- ・ドイツ語圏: 教授の絶対的権威
- ・フランス: 学歴に対する敬意、
平等 (Égalité) が錦の御旗

緑色硫黄細菌の反応中心、電子伝達



Prof. H. Gest:新しいグループの光合成細菌
Heliobacteriaの発見者

緑色硫黄細菌反応中心の単離と電子伝達の反応速度

白沢聖一、楠元範明、那須英明、井上和仁、富岡厚、中村有希、
瀬尾悌介、伊藤政知、河野芙美子、上川るみ子、高平学、(理研)
野口巧、(岩手医大)加茂政晴、(東京理科大)榎並勲、(海洋バ
イテク)紙野圭、(Saclay研究所) P. Sétif, K. Brettel, A.
Mezzetti, W. Leibl, J. Breton

- ・葉緑体は、2種類の光化学反応系(PSI、PSII)を持つ
- ・緑色硫黄細菌の光化学反応系はPSIの祖先型

緑色硫黄光合成細菌

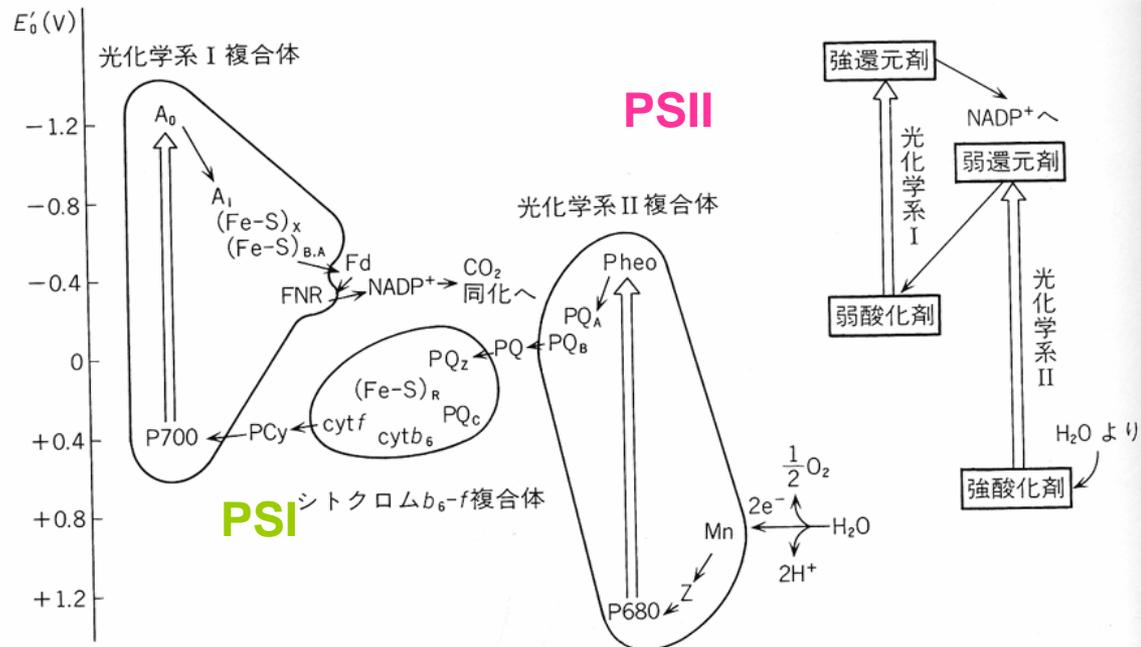
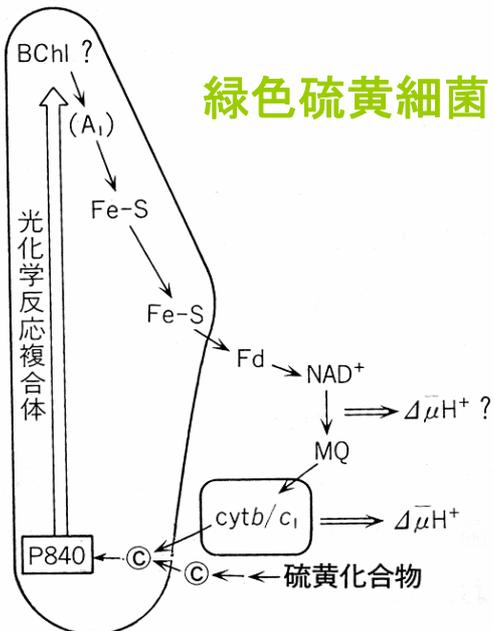


図 6-9 光合成の電子伝達系 (右側は概念図)

楠元範明(早稲田大学教育学部助教授)

緑色硫黄細菌 *Chlorobium tepidum* の光化学反応中心複合体の構造と機能

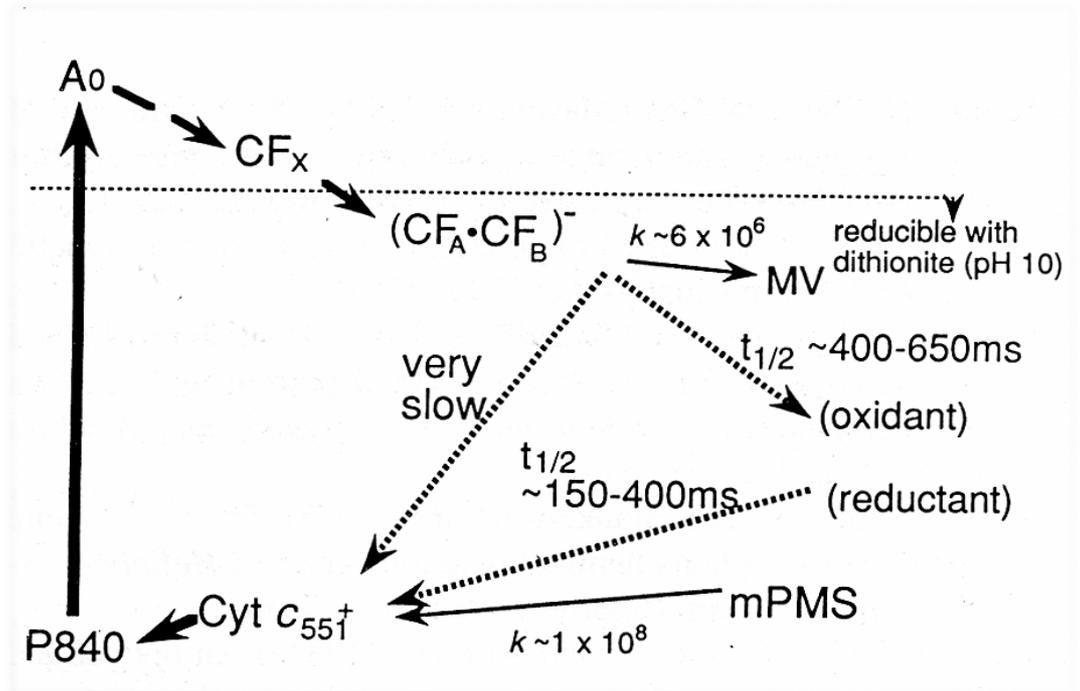
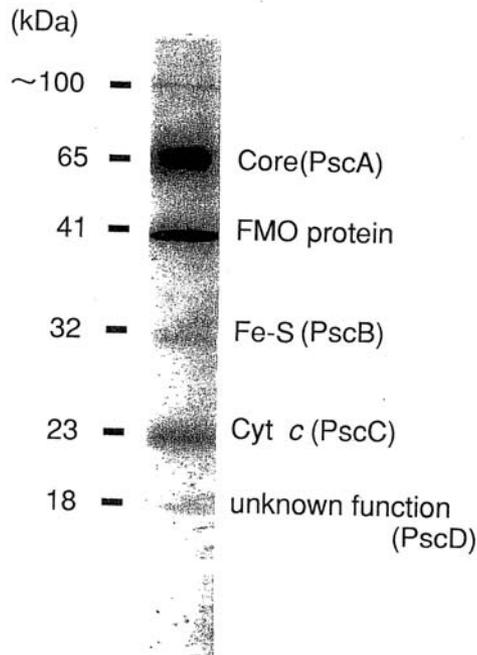
好熱性(thermophilic)生物の利点(42°Cで生育): タンパク質が常温で安定

室温(22°C)との差: 20°C、低温(4°C)との差: 38°C

中温性(methophilic、22°Cで生育)、低温(4°C)との差: 18°C

左図: 5種のサブユニットからなる反応中心の精製

右図: 精製反応中心周辺の電子伝達



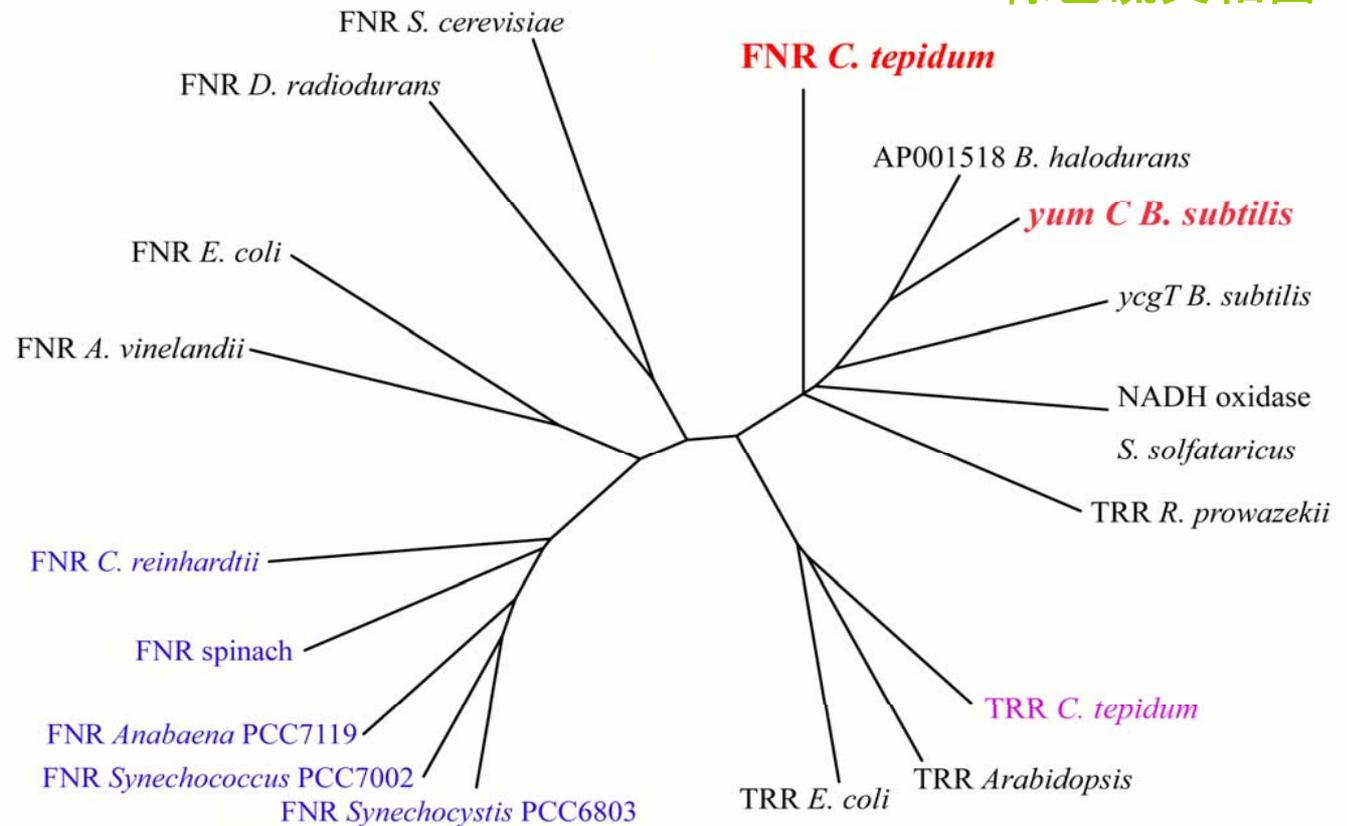
瀬尾悌介(金沢大学助手) 緑色硫黄細菌のNADP⁺還元系

FNR(フェレドキシン-NADP⁺レダクターゼ)は還元力供給の主要酵素

ゲノム情報からは、植物型FNRと近縁のタンパク質の遺伝子は見つからなかった

FNR活性を持つタンパク質を精製した結果、**緑色硫黄細菌FNRは全く新しいタイプの物であることが分かった**

緑色硫黄細菌



植物、藻類

0.1

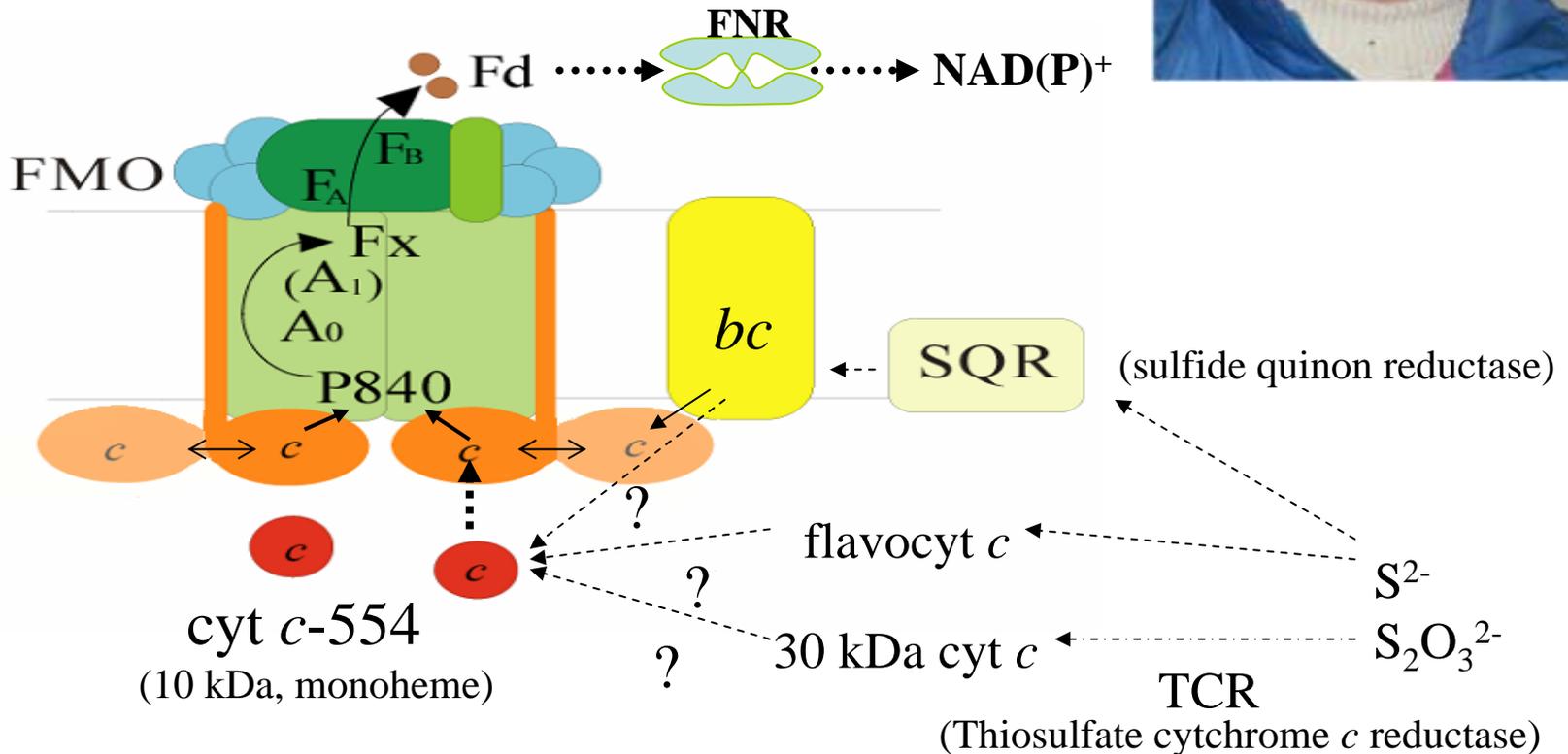
フランス (Saclay研究所)との共同研究

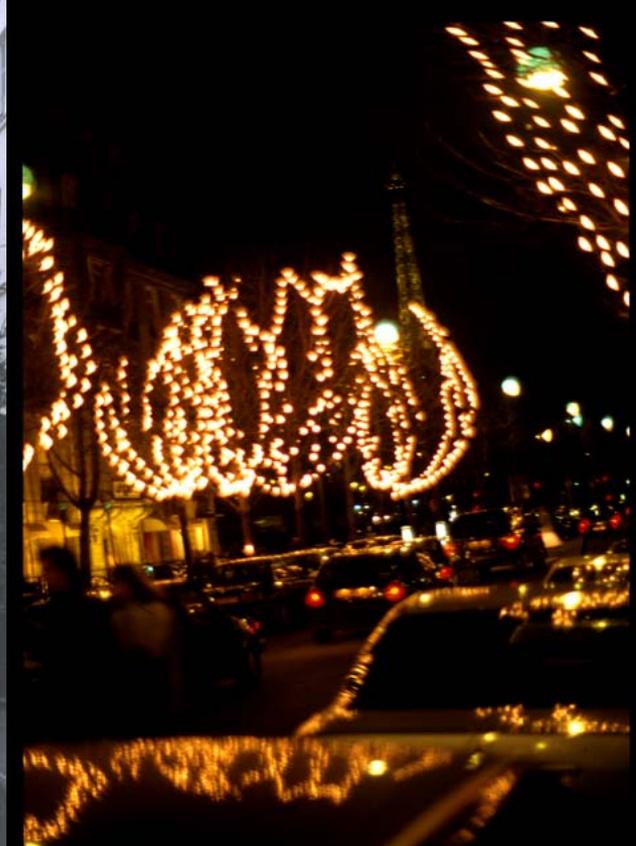
P. Sétif, K. Brettel (1996-2000)

楠元、井上、瀬尾、櫻井

緑色硫黄細菌 *Chlorobium tepidum*

反応中心周辺の電子伝達







1988 P. Mathis (Saclay)

1989 P. Vignais (Grenoble)

1996-2000 P. Sétif (Saclay)



リン酸利用系、酸化ストレス (1985頃一)

- ・リン酸取込系、利用系: 鈴木幹雄、**降旗敬**、新井康仁、城市篤、直井由紀、佐藤康之、今井宏、田中正浩、
- ・亜硫酸ガス(SO_2)の植物細胞進入経路、抵抗性:**降旗隆**、**Pomprasirt, S.**、山本宏幸
- ・酸化ストレス関連
長谷川桂子、関口憲二、森崎充子、渡辺恭子、渡部裕子、藤原敬之、片桐摩紀、**Ittarat, W.**、(Indiana Univ.) R.K. Togasaki、北山薫

降旗敬(京都府立高校教諭)

植物細胞によるリン酸および亜硫酸ガスの取込み機構

リン酸は植物の重要な栄養素。植物細胞のリン酸取込み系には、高親和性、低親和性の2種類がある。リン酸飢餓条件では、高親和性活性が上昇する。

亜硫酸ガスは輸送体を経ずに取り込まれる(単純拡散)

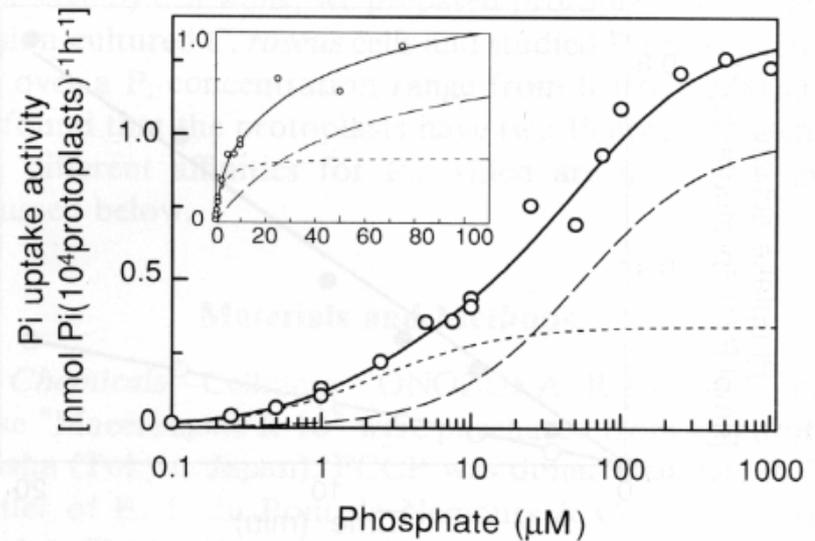
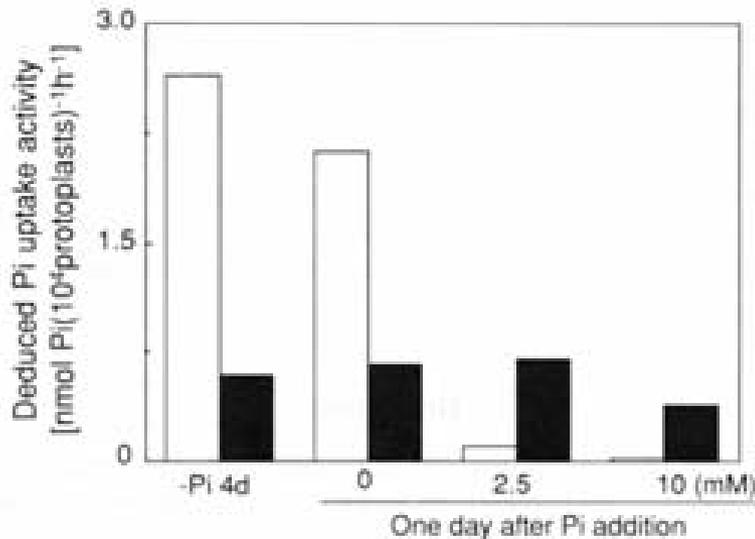
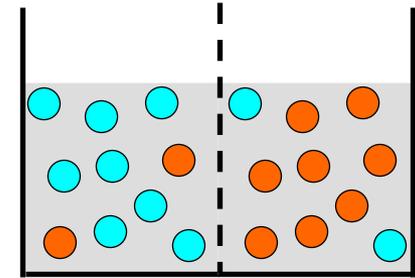
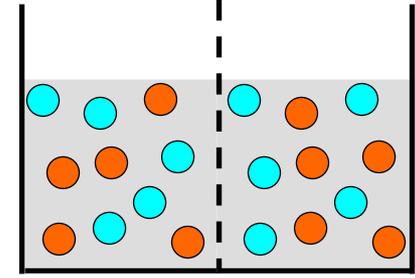
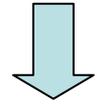
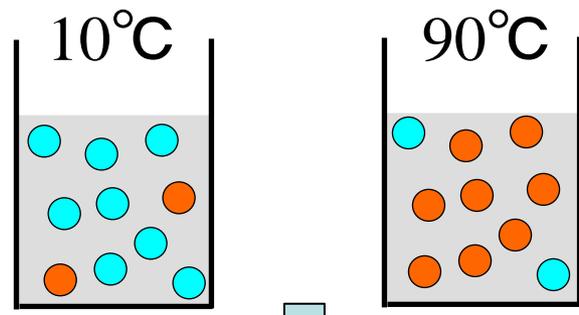
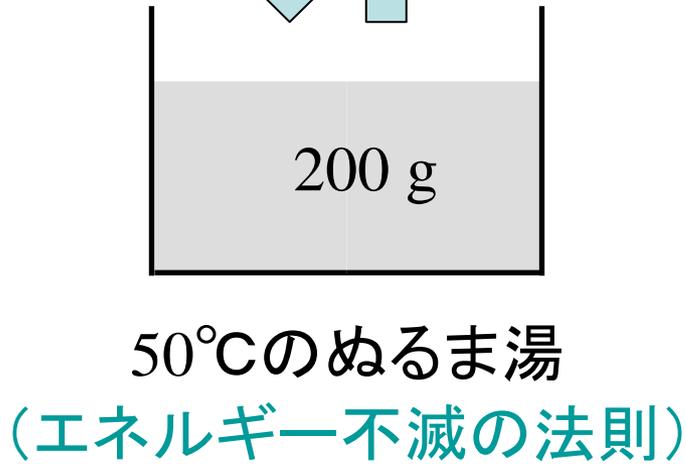
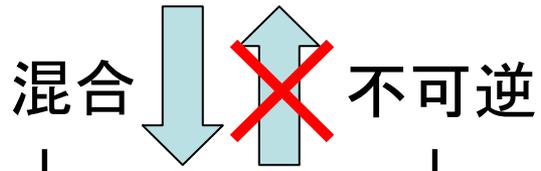
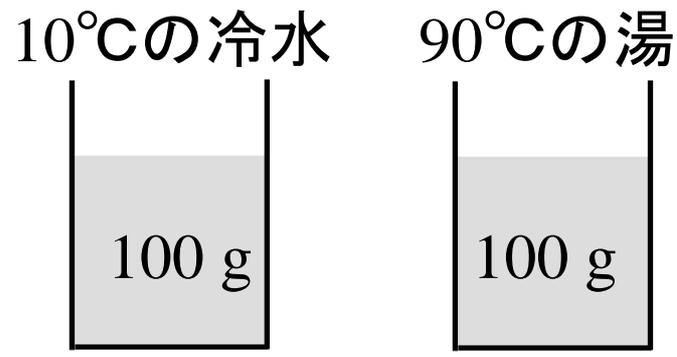


Fig. 3A

生物には物理・化学法則に上乗せした法則があるか？統計力学がモデル：微視的にはニュートン力学に従うものが、巨視的には(集団となると)新たな秩序を生む

【統計力学、熱力学の基礎】



生物(動物、植物、細菌など)の特色

宇宙(物理法則)



•生物は、物質系であり、その活動は物理法則に従うが、物質的遺伝情報を持つという点で無生物とは異なる存在である。

•人体は遺伝情報により支配されているが、人類社会は物質的拘束から解放された社会情報(文化、文明)に依存することにより、急速に発達している。

•生物は、情報を蓄積することのできる物質系であり、地球という環境の中で進化してきた歴史的な存在である。

所産物の蓄積(物的、文化的、制度的等)

科学的知識(サイエンスリテラシー)普及は科学者の責任
(生物は地球の歴史と共に発展してきた自己増殖能力ある物質系.
約35億年?前に発生. 神の存在を必要としない)

血液型、誕生日の星座は人の性格や運命に影響するか？

答:どちらも影響しない(両者の差)

・**血液型**: 遺伝子によって決定される
性格に影響する可能性はあるかもしれない



しかし、注意深く行われた科学的調査によって検証されていない



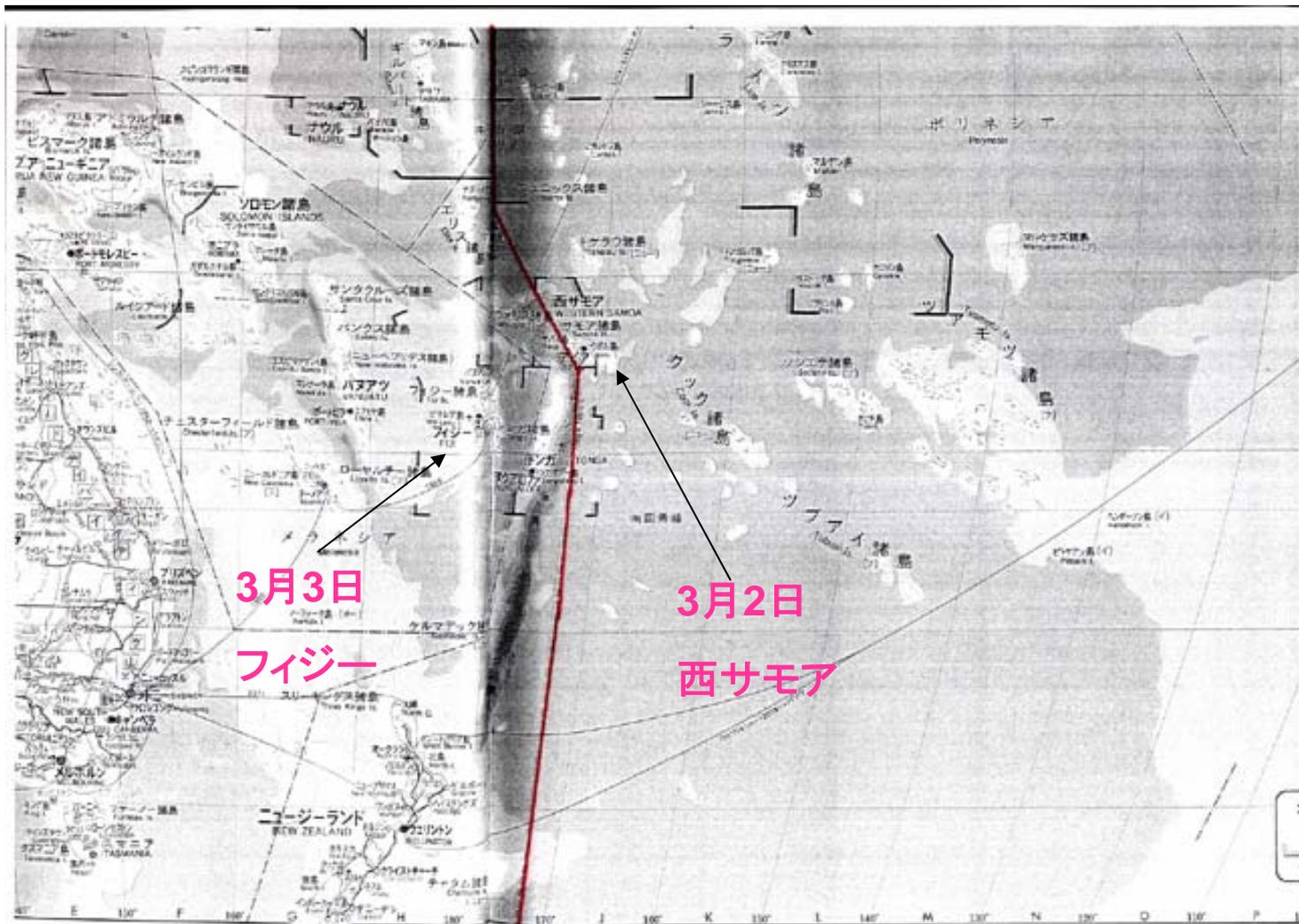
信じる根拠がない

・**星座**: 地表にはきわめて僅かなエネルギーが到達するだけ
そのような僅かなエネルギーが大きな影響力を持つとは考えにくい



しかも

誕生日の星座が運命に影響するはずはない



日付変更線

大学入試から見た高校間格差の研究(1994-1997)

櫻井英博、楠元範明、椎名乾平、中野美知子、並木秀男、並木博

早大一般入試合格者の過半数は上位200校から

順位付け

A.各大学合格者の偏差値

B.同合格者の入学率

C.各高校からの合格者数(サンデー毎日、旺文社、予備校)

D.各高校の卒業生数

計算: 高校ごとに (BxC)/D を算出、偏差値の高い方から積算。**BxC: 推定入学者数**

1986 教育総合研究室

室長: 中尾清秋

幹事: 鈴木慎一、渡辺重範、平野弘道、櫻井英博

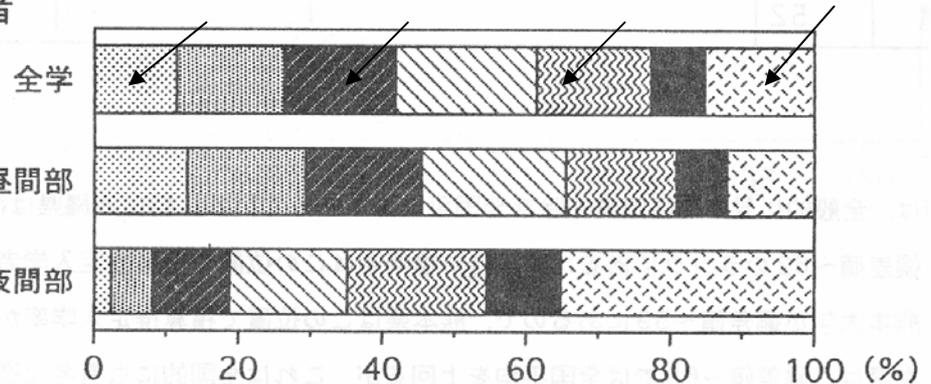
「早稲田教育評論」刊行

1998.9 教育総合研究所

全国の高校数: 約4500。全国的入試成績順位

1-20位 51-100位 201-400位 601位以下

合格者



入学者

