

2009年5月29日光合成研究会シンポジウム資料

金井先生のご発表資料

- ・金井龍二：光合成の今昔物語 -CALVIN-BENSON 回路と” lollipop”、1996年、光合成研究、Vol. 6(1)：15.
- ・金井龍二：光合成研究のはじまり-1、1996年、光合成研究、Vol. 6 (2)：8-11.
- ・金井龍二：光合成研究のはじまり-2、1996年、光合成研究、Vol. 6 (3)：13-15.
- ・金井龍二：ROBERTSON SYMPOSIUM こぼれ噺、1997年、光合成研究、Vol. 7(1)：10-11.
- ・金井龍二：光合成研究について-わたしの提言と昔話、2002年、光合成研究、Vol. 12(2) 9-10.
- ・西村光雄：光合成戯画資料編7 小さな光合成グッズ、1997年、光合成研究、Vol. 7 (1): 4-5.

*以上は、過去の「光合成研究」からの転載です。(編集部より)

私は光合成の研究史関係の画像を研究の片手間に集めてきたが、光合成過程の理解のために重要な発見をした人物の肖像がなかなか見つからないことがある。たとえば、ヘルモント(Johannes Baptista van Helmont 1579-1644)は植物の生長と重量増加のために必要なのは水だけであるということをヤナギの5年間の生長にともなう重量変化から推論した(1)。彼は各種の気体の発見者としても評価され、生物学や医学に定量的実験を導入したことで知られているが、植物による空気中の二酸化炭素の取り込みについては気がついていなかった。彼の実験は酸素や二酸化炭素などの気体の性格が明らかになり、光合成の化学的性格についての理解が進むようになった十八世紀末より一世紀半ほど前なのでやむをえない。ヘルモントはブリュッセルで活躍していたので、1983年に同地で国際光合成会議が開かれた際に彼の業績についての記念講演がベルギー学士院でなされた。私はその講演に感銘を受けたときから彼の肖像画を探していたが、なかなか適当なものが見つからなかった。自分の国の切手にあるよとベルギーの友人が教えてくれたので、切手商に行って見つけたのが図1である。

図1(左図). Johannes (Joan, Jan, Jean) Baptista (Baptist, Baptiste) van Helmont.
1942年 ベルギー発行

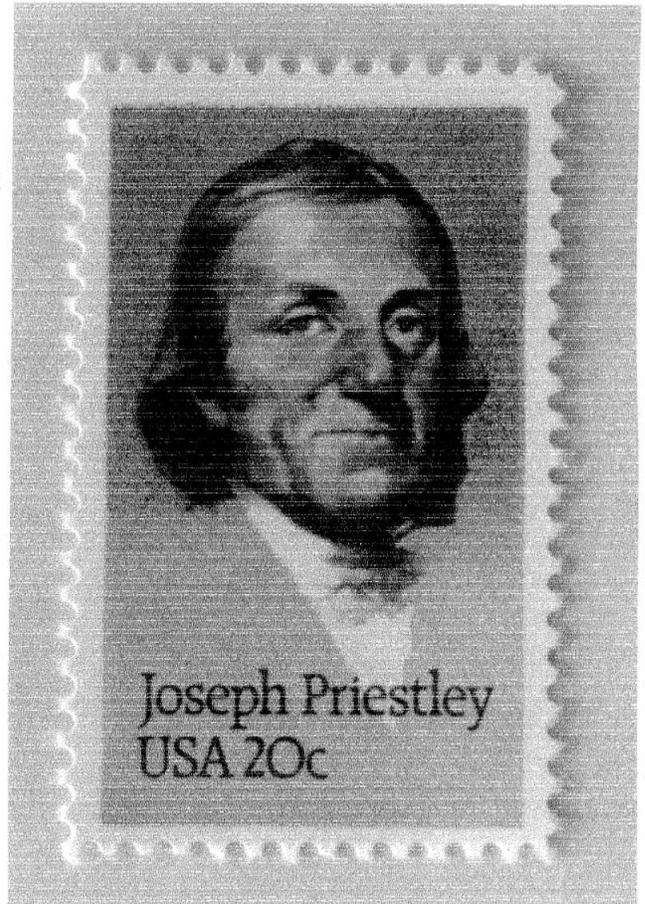
図2(右図). Antoni (Antony) van Leeuwenhoek. 1937年 オランダ発行



同じ店でレーウェンフク(Antoni van Leeuwenhoek 1632-1723)の肖像もみつけた(図2)。彼は自分で作った顕微鏡で微生物を発見したことで知られているが、葉緑体の発見者でもある。藻類(たぶん接合藻のSpirogyra)のラセン形の大型の葉緑体を1674年に記録している(2)。

最後に光合成と酸素の“発見者”の一人であるプリーストリ(Joseph Priestley 1733-1804)の肖像を出しておく(図3)。彼は酸素をはじめ多種の気体を発見し、光合成と呼吸の本性についての理解を深め、電気の研究などを行ったが、英国の非国教会派の牧師として宗教、政治、化学の激動の時代を生きた人物として興味深い。彼は1791年に政治的な対立と煽動の中で暴徒化した群衆によってバーミンガム郊外の住居と実験室などを焼かれ、米国に移住した。ニューヨークに着いたプリーストリは自由の旗手として予想外の盛大な歓迎を受けた(3)。彼は若い共和国の首都フィラデルフィアに向かい、さらに息子の農場経営計画の予定地だった200マイルほど離れたノーサンバランドに実験室を兼ねた自宅を建てた。プリーストリ関係の建物や設備が残っているのはここだけなので、私は2回見に行こうとした。1959年の夏に近くまで行ったときには時間が限られていて、“酸素を出さない光合成”をする紅色細菌を熱心に研究しておられた堀尾武一博士(現在大阪大学名誉教授)は「僕は酸素とは縁が薄い」と意見が合わず、州が保存しているPriestley Houseには行かなかった。1968年の秋に松山哲夫博士(現在埼玉大学教授)と行ったときには夕方になっていて、中に入れず、建物の外観の写真だけとってきた。そういう訳でプリーストリについて私にはまだ消化不良のような気持ちと退色が進んだカラー・プリントが残されている。

図3. Joseph Priestley.
1983年、アメリカ合衆国発行



- (1) Helmont, J.-B. van: *Ortus Medicinæ*, pp. 108-109, Amsterdam, 1648.
- (2) Leeuwenhoek, A. van: *Letter to the Royal Society (Letter 6, 1674)*
cited in C. Dobell: *Antony van Leeuwenhoek and his "Little Animals"*,
Dover, New York, 1960.
- (3) Smith, E. F.: *Priestley in America, 1794-1804*. Arno Press, New York, 1980.

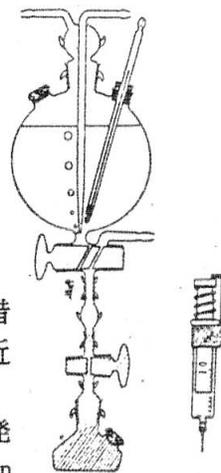
理化学研究所の Eminent Scientist 招へい制度により、Andy Benson先生が、昨年11月末から2週間ばかり日本に滞在され、埼玉大学でも "Radiobiochemical Exploration" と題する講演会が持たれました。内容は Rubenや Kamenと一緒に始めたトレーサー実験による光合成研究の曙時代に始まり、いわゆるカルビン回路の要となるリブローズ1,5ビスリン酸(RuBP)の発見、スルホリピドやグリセロリン酸の発見に至る有名なお仕事、更には、生物における砒素代謝の役割から、最近のメタノール散布による植物の生育増進効果の宣伝(?)まで、歴史的にも貴重な記録となるスライドをふんだんに使ったユーモアたっぷりな興味あふれるお話でした。

まず、最初のスライドは、先生が1957年に初めて日本を訪れた International Symposium on Enzyme Chemistry (これは日本で最初の生化学国際会議でした) のバッジでしたので、私には約40年前の鮮明な記憶が甦ってきました。実は、この年に植物学科の大学院に進んだばかりの私たちが会場準備に駆り出され、立て札作りやスライド系の補助をやらされていました。当時、光合成の炭酸固定経路が発表されて数年しか経っていない頃でしたから、Benson先生の姿をまぶしく眺めていました。さらに、学部学生の頃に記憶は遡りますが、田宮研究室の先輩に薦められて、Calvin一派の論文 "The Path of Carbon in Photosynthesis" を初めて読んだ時のことを思い出しました。語学力の不足は仕方がないにしても、実験方法の部分は読んでもチンプンカンプンな箇所が多かったのですが、その一つが実験器具の "lollipop" でした。研究社英和大辞典をひくと、1. 棒つきキャンデー、2. (方言)「止まれ」の交通標識 と出ています。(おしゃぶり菓子で前照射実験? そんなバカな!) 科学者がいたずら半分で実験器具に愛称をつけているなどは、想像も出来なかった頃の話です。(他にも、文献で *ibid.* という雑誌がよく引用されているが、これは何処で見られるのだろうか?) その後、宮地先生(現海洋バイテク研究所長)の和製叫びで私も水素細菌の実験をさせてもらいましたが、今回、Benson先生のスライドで元祖 lollipopにお目にかかることができました。



ところで、光合成回路の提唱後、直ちに発見された炭酸固定酵素は反応メカニズムから Carboxydismutase と呼ばれていましたが、命名規約により RuBP carboxylase となり、さらに酸素添加反応も触媒する事が発見されて、Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase、後に RuBisCO と略称されるようになりました。これを思い付いたのは、本酵素発見前にこのタンパク質を分離して Fraction I と命名していた Sam Wildman 周辺のアメリカ人達です。あまりにも、菓子会社のコマーシャルリズムに迎合した呼び方に抵抗感を覚えた研究者も多かったのですが、名古屋で開催された第9回国際光合成会議の第16セッションの司会をされた赤沢先生が George Lorimer から借りた(?)スライドで RUBESCO 印の赤ワインボトルを紹介されるに及んで、最近では、私も講義などでひんぱんに用いるようになりました。

そう言えば、分子生物学の遺伝子操作技術のなかに、E.M. Southern が開発した方法にあやかった語呂合わせで、関連手法を勝手に Northern 法や Western 法と命名し、これが常用語になる始末で、この分野に明るくない者にとっては戸惑うばかりです。



前照射実験装置 (lollipop)

植物の光合成と呼吸の研究は、1772年8月に英国リーズの牧師Joseph Priestleyが発見した、「植物による空気の浄化作用」にはじまる。”密閉箱の中でローソクを燃やすとしばらくして消えてしまい、マウスを入れると窒息死する。しかし、その中にハッカの小枝を入れて約10日間放置すると、その箱の中でローソクが再び燃え、マウスも窒息死しない”ことを観察し、植物には燃焼や呼吸で腐った空気（炭酸ガスが増加した“fixed air”）を生命維持に必要な空気（“dephlogisticated air”：マインO₂状態の空気）に変える能力がある”と結論した。ただし、彼はこの働きに光が関与していることに気付かなかつたため、実験結果の再現性に悩まされた。また、当時、気体化学の創生期に流行したフロジストン説（燃焼や呼吸では、物質からphlogiston[燃素]という元素が放出されると考えたが、実は[MainO₂状態]を元素の存在と誤認していた）を信奉していた彼は、この空気の浄化作用が植物の光合成による酸素の放出にあるとの理解には至らなかった。ところで、彼は熱烈なプロテスタントとして英国国教会への反対運動に熱心で（図1右）、自らも新大陸ペンシルバニアに逃れ、その地で亡くなったという。その活躍の様子は岩波新書の杉浦忠平著「理性と革命の時代に生きて」に詳述されている。ただし、光合成の発見はほんの数行しか触れられていない！ともかく、この発見は医学的見地から、ロンドンで大評判になった。オランダ生まれのオーストリア宮廷医 Jan Ingen-Houszは、この結果を追試するため、1779年夏に休暇を取って、わざわざロンドンに滞在し、数ヶ月で500回以上の実験を重ねて、同年10月には本にまとめて出版する早業であった。彼によれば、“空気の浄化作用は植物の緑色部に光が当たったときに起こる光化学反応で、暗所では植物も空気を腐らせる。”改訂版(1796)では、



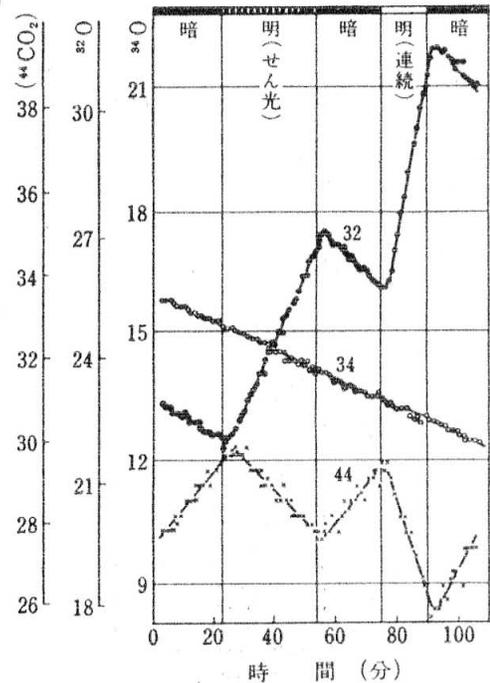
DOCTOR PHLOGISTON,
The PRIESTLEY politician or the
Political Priest!

いち早くLavoisier(1785)の気体命名法を採用し、“この働きで植物は酸素を放出し、炭酸ガスを取り入れて体内の有機物を作る”と述べている。要するに、植物は昼間は光合成を行うが、夜間は呼吸をするというわけである。

そこで問題になるのは、植物の葉が、昼間光合成をしているとき、呼吸の働きはどうなっているのだろうかという疑問である。Ingen-Houszは単純に、昼間は呼吸が停止すると考えたが、光合成を定量的に扱おうとする後の植物生理学者にとって、この疑問は、真面目に考えると夜も眠れなくなる“nightmare”であり続けた(Rabinowitch, 1945)。光合成と呼吸では CO_2 と O_2 の出入りが互いに逆になるので、光合成中の呼吸を定量的に扱おうとする試みは常に過小評価になるおそれがある。結局、植物の光合成組織における呼吸は明暗に関係なく一定に起こると仮定し、真の光合成速度は、光照射中の O_2 放出(見かけの光合成)に暗処理中の O_2 吸収を足した値とする他にしようがなかった。ところが、Allan H. Brown(1953)はクロレラに重酸素($^{18}\text{O}^{16}\text{O}$:質量数34)を与えて気相の質量分析をした実験により、この推論が正しいことを示したのである(図

2右)。この図で、質量数44は CO_2 の出入り、32はクロレラ体内からの O_2 放出で、これらは呼吸と光合成を表す。これに対し、質量数34は明暗に全く関係なく一定速度で取り込まれていることを示している。この結果は、植物生理学者をほっとさせただけでなく、葉緑体の光合成とミトコンドリアの呼吸を個別に研究している人々にも極めて受け入れやすい立場であった。

しかし、光合成と呼吸が互いに影響し合う可能性を示唆する実験結果も以前から得られてはいた。その代表的な2例はWarburg効果(高 O_2 分圧下におけるクロレラ光合成の阻害の発見,1920)とKok効果(光合成速度の光強度依存性直線が光補償点付近の弱光で折れ曲がる現象,1948)で、何れも光合成中に呼吸が何らかの影響を受ける可能性を示唆するものと見なされた。第3の例は光合成中に光を消した直後1~2分間で見られるガス代謝異常である。20世紀半ば頃まで、生化学研究室の主設備の一つがマンオメーターで、大抵の反応は O_2 または CO_2 の出入りとして定量していた。この測定法は、呼吸により放出される CO_2 をアルカリで捉えて、 O_2 吸収のみを正確に定量できるので極めて有効であったが、光合成では CO_2 取り込みを伴うので、特別な炭酸緩衝液を用いるなど様々な工夫が必要になり、Warburg自身も生涯この装置の改良に腐心し、光合成の高量子収率を得る事に関心を持ち続けた。ところで、Warburgの説に反論し続けることによって、輝かしい研究業績を残したのはEmersonだが、あまり知られていない彼の論文(1941)に、マンオメーターによるクロレラの光合成測定の際、光を消した直後に見られるガス代謝の異常に関する報告がある(この辺の事情について、故高宮篤先生の優れた解説がある。蛋白質核酸酵素臨時増刊「光合成の生化学」1965年10月号)。しかし、マンオメーター法は葉の光合成を測定するには役に立たない。そのため、赤外線による CO_2 ガス分析装置(IRGA)が開発され、1950年頃から農学者や生態学者の間で、これを用いて、高等植物の光合成と呼吸を測定する者が出てきた。ニューヨーク植物園のJohn Deckerもその一人で(図3:次ページはIRGA分析装置のB/L社のパンフレットで、下線



Photosynthesis—Key to Our Food Supply

Infrared gas analyzer is employed to indicate CO₂ uptake by green plants in experiments with photosynthesis.

ALL FORMS OF LIFE depend for existence on food in one form or another. Practically all food is produced directly or indirectly by photosynthesis, a process in which green plants use the sun's energy to make sugar from the carbon dioxide in the air. Since all the food, fuel, fiber and flesh of the world are made of transformed sugar, photosynthesis is the first step in the entire food-making process, and most of man's cultural practices used in growing plants are aimed directly or indirectly at increasing the photosynthetic yield.

Because of its importance in all forms of agriculture, horticulture and forestry, an easy and rapid method of measuring photosynthesis would be an invaluable tool. It would provide a means of evaluating directly the many factors affecting yield or dry weight increment, such as environment, insects, diseases, control measures and cultural practices. However, photosynthesis techniques have had only limited practical value in the past because they were cumbersome, tedious and inaccurate.

A promising technique has now been developed which appears to be fast enough, accurate enough and simple enough to serve as a very practical diagnostic tool. The technique,^{1,2} developed by Dr. John P. Decker of the Brooklyn Botanic Gardens, is based on the change in CO₂ content of the air in a closed system surrounding the plant shoot or leaf under investigation. The leaf or branch, still attached to the plant, is sealed in a chamber with modeling clay. This chamber is connected in closed series with a small air pump and a *Liston-Becker* Model 15 infrared gas analyzer for continuously monitoring the CO₂ content of the air. The fall of CO₂ content is taken as a measure of the CO₂ uptake by the plant. The laboratory setup for making this determination is shown in the photograph, with Dr. Decker watching the progress of the experi-

ment. An L-B Analyzer is in the foreground.

Dr. Decker conducting an experiment in photosynthesis in his laboratory at Brooklyn Botanic Gardens. A leaf attached to the living plant has been sealed in a closed system, and the L-B Analyzer (lower center) indicates CO₂ percentage in the system. (Photo by Walter Daran)



ment. An L-B Analyzer is in the foreground.

Sensitivity of this system is so great that Dr. Decker has been able to demonstrate the slight amount of photosynthesis resulting when a single leaf is lighted by a flash of light lasting only one second. This is equivalent to the production of less than one *billionth* of a pound of sugar. Similarly, he has demonstrated the interruption of photosynthesis resulting from a one-second darkening of the leaf. Changes in CO₂ concentration of as little as 2 parts per million can be accurately measured, and this still does not take full advantage of the capabilities of the Model 15 analyzer.

Working with his graduate student, John Clark, Dr. Decker determined that photosynthesis in a grapefruit leaf halted abruptly 40-60 seconds after the twig was cut from the tree. This explained why twigs cut at the Minute Maid plant in Florida, packed in wet moss and shipped air express were inactive when unpacked and tested in Syracuse, N. Y., 24 hours later. Mr. Clark found that

a red spruce branch photosynthesized exactly the same before and after being cut from a tree.³

Dr. Decker has found that immediately after a rapidly photosynthesizing leaf is darkened there is a large outburst of CO₂ from it.⁴ This, together with evidence obtained by geometrical analysis of other data, allowed him to prove the existence of photorespiration, popularly known as "Rubinowich's Nightmare," a hitherto purely hypothetical phenomenon. Proof of the existence of photorespiration necessitates revision of the accepted estimates of the quantum efficiency of photosynthesis.

Thus the L-B gas analyzer with its high sensitivity and stability may contribute indirectly to the world's food supply, and perhaps help in the ultimate large-scale use of photosynthetic processes in laboratories and factories.

REFERENCES

- ¹ Plant Physiology 29: pp. 305-305, 1954.
- ² Plant Physiology 30: pp. 82-84, 1955.
- ³ Plant Physiology 29: pp. 489-490, 1954.
- ⁴ Time Magazine, Apr. 25, 1955, p. 63.

5

下線はは私がつけた。彼はタバコをはじめ様々な植物の葉を用いて、暗・明におけるCO₂ガスの出入りから、光合成と呼吸の速度を測定している際、明暗切り替え直後の暗所ではCO₂放出速度が一時的に極めて高くなり、定常状態の暗呼吸の4~5倍に達する点に注目

した(Plant Physiol.30:82,1955)。彼は、この光照射直後のCO₂放出現象(Post-illumination CO₂ burst: PICB)は、光合成中に葉の呼吸が高まっていた事を示す証拠と見なした。さらに、PICBは前照射中の光強度依存性で、温度応答が暗呼吸とは異なることから、光照射中の呼吸はいわゆる暗呼吸とは異なるメカニズムによると考え(J.Solar Energy Sci. and Engineering 1:30,1957; ibid.2:39,1958; Plant Physiol.34:100 & 103, 1959)、これを光呼吸(Photorespiration)と名付けた(図3; J.Agric.Univ.of Puerto Rico 43:50,1959)。しかしその後、彼の論文は出ていない。

光呼吸の再発見は1964~65年で、この時期は、ハワイのHugo KortschakらによるサトウキビのC₄光合成経路に関する公式発表(1965)と軌を一にしている。カナダのKrotkovやTregunnaと西ドイツEgleとFockの研究グループが、やはり、IRGAを用いてPICBの詳細な解析により光呼吸が認知された。これは、新経路を持つC₄植物が光呼吸の特性を示さないことに関連して、逆に、C₃植物に見られる光呼吸現象(高O₂下でのCO₂補償点やPICBの増大)が、にわかに脚光を浴びるようになったためである。残念ながら、両グループは共にDeckerの業績をあまり高く評価していない。しかし、Israel Zelitchが著書(1971)中で光呼吸におけるDeckerの先駆的役割を強調した結果、一般に再認識されるようになった。来日した研究者に、その理由を尋ねたところ、カナダグループの後継者の一人が次のような説明してくれた。当時、Brownの実験結果が余りにもわれわれの願っていた推論によくマッチしていたし、光呼吸は暗呼吸とは別種のものだとの主張は一般には容易に受け入れられなかった。そのうえ、Brownは植物生理学会誌の編集者でもあったことも関係があると言う。

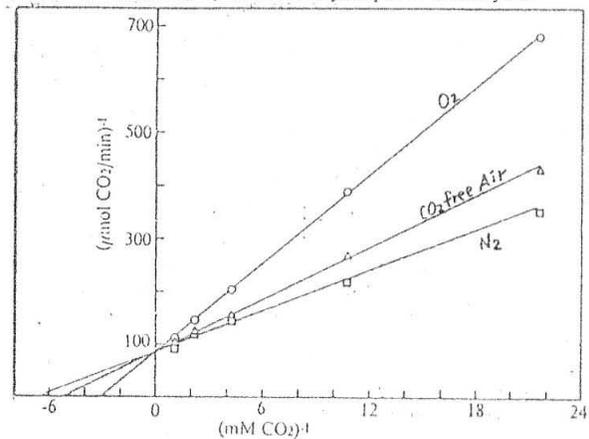
その後、光呼吸の生化学も明らかになり、低CO₂高O₂条件下では光呼吸が促進されることも分かっている現在の視点で、Brownの実験条件を再検討してみると、おそらく¹⁸O酸素が貴重なためと思われるが、気相の¹⁸O酸素は2.25%、CO₂は2%となっている。しかし、このような低O₂高CO₂条件では、光呼吸は全く起こらないのは明らかである！ 実際、21%¹⁸O₂-0.033%CO₂条件下では光強度に依存して質量数36の取り込みが促進されることが証明されたのは、少し後のことである(Kokら1963)。何はともあれ、C₄光合成経路の発見におけるKortschakの役割を、光呼吸の発見ではDeckerが果たしていたことは確かである。

余談になるが、私の学生時代に、BrownやKrotkovが田宮研究室を訪問し、おそらく、上に述べた彼らの研究をゼミで披露された様な気がしている。顔は思い出せるが、仕事の内容は正確に覚えていない。また、アメリカではDeckerにも会ったらしい。と云うのは、彼の昔の論文を手に入れたくて、手紙を差し上げたところ、図3などを含めて貴重な資料をお送りいただいたが、添えられたお手紙に、”私はアメリカ植物生理学会の南部支部会(アラバマ州モービル)で、あなたに会いました”と書いてありました。1972年の同支部会シンポジウムで、私がClanton Blackの研究室で行った仕事を話したのですが、後のパーティーで紹介され、握手をした多数の人々の中に、おそらく、Deckerも含まれていたに違いありません。いまさら、自分のヒヤリングのまずさを後悔してもはじまらないことでした。

植物の葉が光合成中に暗呼吸とは全く異なるしくみで、CO₂を放出していることは先に述べた。この光呼吸の生化学的メカニズムとして一般に受け入れられているのが、グリコール酸経路である。その解明にいたる紆余曲折は、先回に述べた光呼吸発見のいきさつに劣らず興味あるものである。¹⁴C O₂光合成の初期産物がC₃化合物(PGA:3-ホスホグリセリン酸)であることから、Calvinらは最初、CO₂受容体はC₂化合物であろうと推定した。その候補となるべき様々なC₂化合物の中でグリコール酸(GcA)にも注目した。確かにGcAは¹⁴Cでラベルされる光合成中間体であった。しかし、PGAのC₂-C₃への¹⁴Cラベルに比べ、GcAの¹⁴C取り込みはゆっくりで、受容体の条件を満たさないことが明らかになった。結局、GcAは完成されたCalvin回路のトランスカーベ反応の中間体('活性グリコールアルデヒド')の酸化による副産物と位置づけられた。その後、コムギ葉に¹⁴C-GcAを与えて代謝経路のあらましを明らかにし、グリコール酸経路が葉緑体・ミトコンドリア・ペルオキシソーム間を巡回することを示したのはNE Tolbert一派である。しかし、最初にグリコール酸経路と光呼吸を関連づけたのは彼ではなく、宿敵と噂のあるIsrael Zelitchであったようだ。ただし、独想性(?)豊かなZelitchは光呼吸のCO₂発生源として、同経路のミトコンドリア酵素グリシドカルボキラーゼ反応ではなく、ユニークな脱炭酸反応(GcA→グリキシル酸→キ酸+CO₂)を提唱している。

グリコール酸代謝経路と光呼吸が密接に関連することが明らかになった時点で、葉緑体におけるグリコール酸生成経路についての全く予期しない展開があった。先回の記事で述べたように、高酸素下での光合成阻害現象(Warburg効果)が光呼吸の指標になることをふまえ、Bill Ogrenらは酸素阻害のターゲットは炭酸固定酵素RuBPカルボキラーゼ(RuBP-C)であろうと考えた。そこで、精製酵素の¹⁴C O₂固定活性をN₂、20%O₂、100%O₂で比較したところ、CO₂に対しO₂が拮抗阻害することが示された(右図: WL Ogren & G Bowes: Nature New Biol. 230, 159, 1971)。後はコロンスの卵で、反応産物としてPGAとホスホグリコール酸(PGcA)の生成と代謝、¹⁸O₂を用いた本酵素のペロキシゲナーゼ作用

Fig. 1 Double reciprocal plot of rate of incorporation of ¹⁴CO₂ (μmol. of CO₂/min) by ribulose diphosphate carboxylase



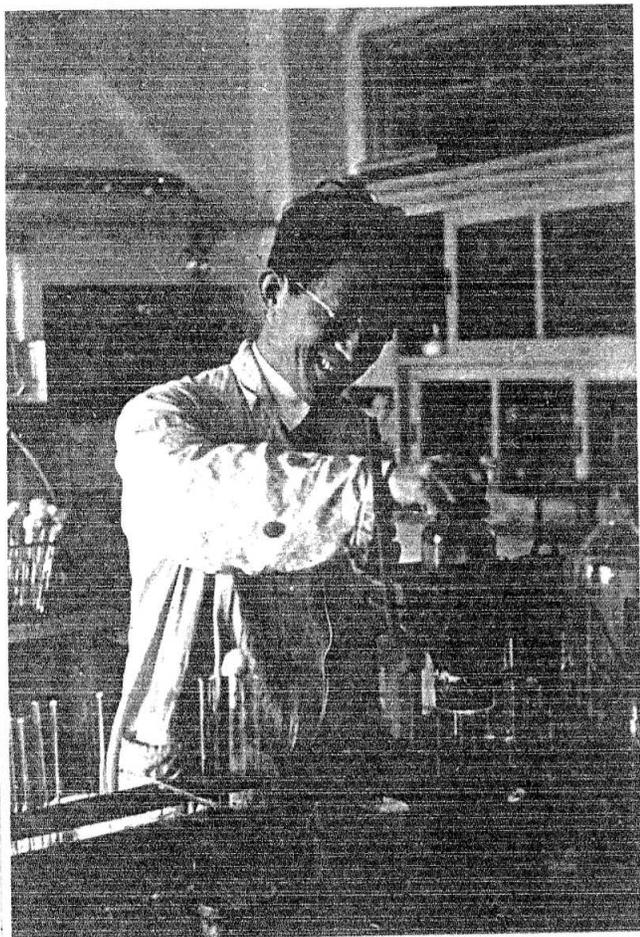
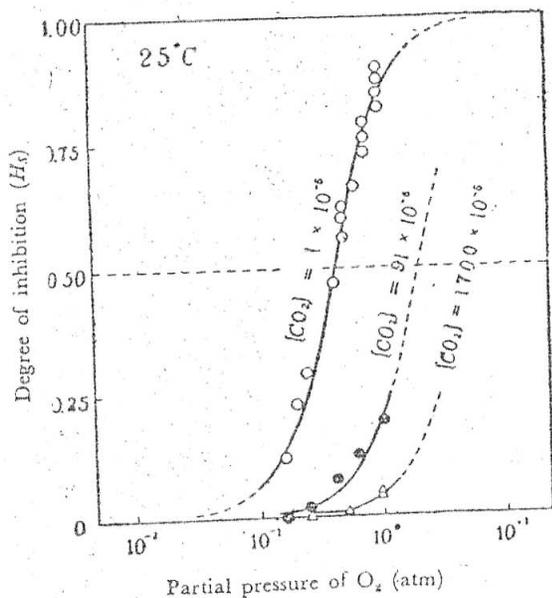
などが、主にToftbert研に集まった俊英たち (TW Anereus, GH Lorimerら) により短期間に解明された経過はよくご存じの通りである。

その当時、Al Basshamは2通りの異論を出した (JA Bassham & M Kirk: Plant Physiol. 52, 407, 1973)。一つは、彼らの実験結果から推論して、グリコール酸生成経路にはRuBPキナーゼと上述のトランスキナーゼの両方が関与するが、後者が主経路であるとの主張である [トランスキナーゼ反応中間体 '活性グリコールアルデヒド' の酸化反応ではグリコール酸への¹⁸O取り込みが説明できないため、今ではこの説を受け入れる者はいない]。今一つは、その10年以上前に、彼らが既に高酸素下での樹木グリコール酸生成を見ていたとのコメントである。その研究 (右表 BBRC, 9, 376, 1962) では、クロレラの¹⁴CO₂ 固定をN₂、20%O₂、100%O₂で比較し、O₂による顕著なRuBPの減少とグリコール酸の増加のほか、量は少ないが樹木グリコール酸量が増加することを観察していた。彼らはこの結果から、未知の炭酸固定中間体が酸化されてC₂化合物の樹木グリコール酸が生成したのではないかと述べている (この推論を実験で確認していれば!)。Al Basshamは大学院学生としてCalvin回路の成立に貢献し、その後も回路の伝道者であり続けたが、彼の誇りと口惜しさは何となく解かる気がする。

TABLE 1. Effect of Oxygen on Photosynthesis with ¹⁴CO₂

	(μc ¹⁴ C/100 algae)		
	O ₂	CO ₂ -free air	H ₂
Total ¹⁴ C fixed	508.0	642.7	732.9
Glycolic acid	48.2	9.2	2.0
Phosphoglycolic acid	3.4	2.1	1.7
Ribulose diphosphate	58.4	91.0	87.6
Other sugar diphosphates	0.3	0.5	1.3
Phosphoglyceric acid	20.1	25.3	40.6
Alanine	35.2	50.3	81.5
Glycine	27.6	21.7	5.4
Serine	17.1	21.9	18.0
Aspartic acid	24.3	32.8	27.6
Glutamic acid	4.5	11.6	8.6
Citric acid	1.4	2.2	1.8
Malic acid	32.5	52.4	55.6

ところで、Warburg効果の原因は炭酸固定酵素の酸素阻害であると述べたのは、田宮博-藤茂宏両先生の論文 (H. Tamiya & H. Huzisige: Acta Phytochimica 15, 83, 1949) が最初である。田宮研究室の光合成研究は第2次世界大戦中に始められた。全ての物資が不足した頃で、マンメーター装置の一部は植物教室所属の木工係 '建具屋のイッチャン' が作ったという。(写真は白衣を着て楽しそうに実験中の田宮先生で、故薬師寺先生が撮られた。下図はデータ)



この研究で田宮らは、クロレラの光合成に対する酸素分圧の影響を詳細に調べ、光合成の酸素阻害は、気相のCO₂濃度が高くなると阻害が緩和されることを見いだした(図参照)。しかも、当時全く未知であった炭酸固定酵素(田宮の命名では'Ruben enzyme')の反応で、O₂が何らかの仕組みでCO₂と拮抗阻害するためであろうと考察している。当時は光合成の生化学が未発達だったため、この結論を導くためには、in vivo測定データに基づいて仮説を立て、反応速度論を展開するのが主な研究手段であった。論文の最後は、占領軍による理研サイクロトロン破壊を嘆いた、次の文で結ばれている。

"Whether our assumption ... is valid or not, would have been easily and conclusively brought to light by testing directly the effect of O₂ upon Ruben reaction using radio-active carbon as tracer. It is our great regret that the fate did not allow us to pursue this experiment owing to the unfortunate destruction of cyclotrons in our country."

光呼吸の再発見後にWarburg効果の原因が注目され始めた頃、多くの光合成研究者がこの論文を読みかえしたと思われる。私もこの論文を苦勞して読んだ記憶がある。しかし、光呼吸現象に対するO₂とCO₂の相互作用を示した最初の論文としての価値は認めたものの、反応速度論で仮定した項目の内、2カ所は最早不適切だなと感じました。残念ながら、私を含め誰一人として、N₂、O₂条件下でRuBP-C活性を比較してみようと発想の転換を試みなかったようだ。

田宮らの洞察力のすばらしさは、ちょうど、「光合成で出る酸素は水に由来する」ことを世界に先駆けて提唱した田宮先生の恩師柴田桂太先生の光合成説(1931)に匹敵するものである。そして、アメリカ人により柴田説の先駆性に対する評価が世界に広められたの同様に、光合成の酸素阻害に関する田宮説のオリジナリティを高く評価する風潮は日本よりもアメリカでより明確である。光合成に関するGordon会議では、夜遅くまでビールを飲みながら歓談する機会が多い。Bill Ogrenも居るそんな席で、George Lorimerが、「BillがRuBP-Cのホウ酸ナセ作用を発見するよりずっと前に、Tamiyaがそれを予告していたんだよ」と、大声で私に話しかけてきた。その時、Ogrenがどんな思いでいたかは知る由もないが、彼はもの静かな人だから、そんな会話を楽しんでいただろう。

このシンポの風変わりな表題はC4光合成の発見に関係があります。いったい、C4光合成は誰が発見したのか？ かつて私も、東京農工大学の石原邦教授と酒席で大議論を闘わせたことがあります。石原氏はハワイのサウキヒ会社検査所のHugo KortschakがサウキヒはC4植物であることを発見した先駆性を強調するのに対し、その意義は十分認めながらも私はHatch-Slackが生化学的にC4経路を確立した点も重要だと反論しました。この会でセッションの司会をしたAndy Bensonが冒頭で "I was an inhibitor of C4 photo-synthesis...C4光合成経路の発見を10年は遅らせてしまったのだから..."と喋りだし、スライドでKortschakグループの女性(Constance Hartt?)を映して見せたので、一同びっくりしてしまいました。Bensonさんが1957年に初めて日本を訪れた際、帰りにハワイに立ち寄り、サウキヒ会社研究所で(ワタク彼女)ハートマンを見ていることは、以前、彼からも聞いていました。そこで私は(ANUハウスで一人で食事していると、このテーブルで一緒に食事してよろしいかと、毎朝、私の前に座られ、昔の四方山を伺うハメになっていました)、おしつけは承知でそのことを質問したところ、当時は自分たちが作った光合成経路に夢中で、彼らの結果が信じられなかったとの趣旨を話されました。この驚くべき彼の率直さに私は一人で感じ入りました。Bensonさんといえば、C3光合成経路確立の実質的な貢献者であると皆が認めている人ですが、彼の会話で私が意外に思ったのは、ハワイグループで彼が名前を挙げてほめたのは当時の所長G.O. BurrとC.E. Harttだったことです。もちろんC4発見におけるKortschakの役割と優れた人柄については次の所長L.G. Nickellの回想録があります(1)。

ところで近頃、ノーベル賞の受賞者の陰で活躍していた女性にスポットを当てる動きがあります(2)。Watson-Crick-Wilkins受賞の犠牲になったRosy Franklinの役割などはその例として有名ですが、近代的光合成研究の創生期にもそのような例が囁かれたことがあります。光合成は光依存性の明反応と温度CO₂依存性の暗反応があることを提唱したケンブリッジのF.F. Blackmanにちなんで、後者(CO₂固定反応)を以前はBlackman反応と呼んでいました。しかし、この仮説を実証した女性共同研究者A.M. Smithの評価は忘れられたままであるというのです。そこで、ハワイグループにおけるC. Harttの実質的な役割が気になるところです。

C4光合成の発見のもう一人の先駆者はロシア・サウキヒ大学のYuri Karpilovです。彼は³²Pを与えておいたトウモロコシに短時間の¹⁴CO₂光合成を行わせて、その¹⁴C固定初期産物³²Pで検出され

るPGAではなく、リンゴ酸であることを明らかにしていたのです(1963)。残念ながら、彼らはこの結果を新経路の発見と評価することができず、むしろCalvin一派の実験方法の誤りを指摘するものだと主張してしまったのです。その後、Karpilovはロシア科学アカデミーの光合成研究所に栄転して亡くなるまでトウモロコシを中心にC4光合成の研究をしていましたが、西側研究者の後追いばかりで、見るべき業績はありませんでした。

シンポの後、Roger Slack夫妻、Gerry Edwards夫妻、それに白田氏と私は南太平洋を目の前にしたHal Hatch夫妻の別荘に招かれました。昼間は海岸を歩き回り、夜はワインやビールを飲みながら気のおけない会話を楽しみました。Roger SlackはHatchとの共同研究の後、ニュージーランドで脂肪酸の生合成経路の研究をしていましたが、今はビール麦のモルトの品質改良の為に育種をしているとのことでした。ある晩、Hatchがソ連の学会でKarpilovに会ったときの話から話題は彼らの仕事の生化学的評価に移りました。それを脇で聞いていたSandy Edwardsから”じゃあ、C4光合成は誰が発見したのよ？”と素朴な質問が出ると、すぐに”それは私だ”とHal Hatchが断言しました。

(1) L.G. Nickell: *Photosyn. Res.* 35, 201-204. (1993)

(2) U.フェルソク(田沢・松本訳): *Nobel Frauen -素顔の女性科学者-*, 学会出版センター (1996)

これまで、この会報の原稿が足りないときの穴埋めとして雑文を書いてきましたが、それも今回で終わりです。
閑話休題

光合成研究について —わたしの提言と昔話—

金井 龍二

光合成は地球上の生き物にとって進化の基礎となり、いまま生命活動の基盤であることは誰でも認識できますが、21世紀における生命科学の隆盛が喧伝される昨今、光合成研究が話題に上ることは少ないようです。人々は、光合成で吐き出される酸素の恩恵を忘れてるように、科学者仲間でも「もう光合成の基礎研究は終わった。今後は人類の欲求に答える応用研究が大切」と考える傾向が見受けられます。しかし、農業生産や生物工学で期待される光合成産物利用のためにも、光合成基礎研究における新たな未知領域の発見と解明は不可欠です。これまでも光合成研究が盛んになる波がありました。カルビン回路、光リン酸化、二つの光化学系、光呼吸とC4光合成など新たな研究課題が展開すると光合成は注目されますが、研究ブームの一段落と共に人々の関心を惹かなくなることが繰り返されました。人気の谷間でも光合成研究の意義を唱え継続するために、日本光合成研究会の存在と活動は大切です。今回の組織改革により研究室間の連絡と連携は強められ、互いに切磋琢磨する機会が増えるでしょう。それと同時に、光合成研究に夢を抱く若者が各研究室に集まるよう啓蒙活動を行う必要もあると思います。そのためには、毎年、若者に魅力あるテーマで光合成シンポジウムを開催し、光合成研究会報の記事をもっと充実することが大切です。光合成研究会による「光合成事典」発刊は時宜を得た企画でした。引き続き、有能な会員による新たな「光合成入門」書の執筆や光合成各分野を新書版でやさしく解説したシリーズのモノグラフ編纂などが期待されます。

わたしが中高校生の頃は敗戦後の食糧難の時代で、人々の最大関心事は食糧増産でした。高校の化学の先生から、その基礎となるのは植物の光合成であると教えられました¹⁾。大学生の頃(1953-57)、Calvin-Benson回路ができたばかりで、植物学科では先輩達の話に聞き耳を立てていました²⁾。高等植物の光合成研究を始めたいと進学した大学院では、わたしの希望に反して、「水素を喰らう細菌」の炭酸固定がテーマでした³⁾。しかし、光リン酸化の発見と研究展開に胸躍らせて Arnon や Jagendorf らの論文を読むうちに、とうとう「迷い猫」となって田宮先生の研究室に住みつき、宮地さんご夫妻のクロレラのポリリン酸代謝研究に参加させていただきました⁴⁾。ドイツで2年半半留学の後、C4光合成との出会いは埼玉大学の学生や同僚との私的セミナーでした。わたしは Kortschak や Hatch-Slack らの論文を逐一紹介し、卒業研究のテーマにも取り上げました⁵⁾。そのうちにC4光合成の未解決部分を自分の手で存分に研究したくなり、大学の雑用を免れたポスドクとしてアメリカに渡りました。ジョージア大学 Clanton Black, Jr.の所では、まず Gerry Edwards と共に当時多くのC4植物では未知の

C4 酸脱炭酸反応の検出を試みました。Gerry は たまたま実験室に生育していたギニアグラス(PEP-CK 型)の葉抽出液にオキサロ酢酸を加えると盛んに分解されるのを見て大喜び、しかしオキサロ酢酸は抽出液なしでも分解されたのがっかりしました。わたしは 既に文献で植物 PEP カルボキシキナーゼ(PEP-CK)の報告を読んだことを思い出し、二人でその測定法を用いると葉抽出物を加えたときにのみこの酵素反応が起こるのが確かめられました。検出実験をはじめたその日深夜の成功に[町のバーは深夜の飲酒は禁止なので]二人はホットココアで乾杯しました。間もなく Gerry はウィスコンシン大学に就職し、一年後、わたしが望んで彼の研究室に移りました。園芸学科で生化学的機器は殆どない新設研究室でしたが、わたしの研究生活で最も実り多い8ヶ月でした⁶⁾。帰国の際、彼の手持ちストックから様々な種子を分けて貰いましたが、*Panicum milioides* も含まれていました。わたしが調べたところ、その葉は形態的にC4 クランツ構造だが¹⁴C O₂ 固定経路はC3 植物に近いので、C3-C4 中間型植物と結論しました。この仕事はわたしが主な実験を一人で行った最後の研究でした⁷⁾。その後、C4 植物葉緑体の代謝産物輸送、高酸素下で生育した植物の対応やCAM誘導植物の生化学的研究では自分の発想が実証されることもありましたが、未完の課題も沢山残してしまいました。

¹⁾炭酸同化作用のホルムアルデヒド説を解説されたのをよく憶えています。

²⁾1年後輩のおませな学生はもうワトソン-クリックのDNAモデルに興奮していました。

³⁾化学独立栄養細菌に対するわたしの興味は今日まで続いています。

⁴⁾真の研究指導者に会い、しっかりと実験指導を受けることの大切さを思います。

⁵⁾学生達と共にC4植物アオビユの葉、子葉、茎や緑化カルスの¹⁴C O₂ 固定産物を比較したり、後にCAM植物と注目されたベンケイソウ葉を細胞壁消化酵素で処理して単離細胞やプロトプラストを取り、明暗のガス代謝、リンゴ酸の代謝を調べていました。

⁶⁾渡米時に持参し冷凍庫に保管していた細胞壁消化酵素を用い、トウモロコシをはじめ種々のC4植物から葉肉細胞プロトプラストと維管束鞘細胞を分ける方法を開発し、C4光合成における両細胞の役割分担やプロトプラストから無傷オルガネラを単離して関連酵素の細胞内局在を研究するのに役立てました。

⁷⁾老眼でピペット操作が不如意になったのを言い訳に、50歳前後で実験を止めてしまったのが今でも悔やまれます。