

【体験入学に参加をご検討中の皆様へ】

このテキストは、過去の分子研体験入学の際に永田グループに配属された方にお配りしたものです。今年も似たような内容を予定していますが、配属予定の方が決まってから（学年などに合わせて）具体的にテーマを考え直しますので、実験内容はこれと全く同じではありません。御理解よろしく申し上げます。

1. はじめに

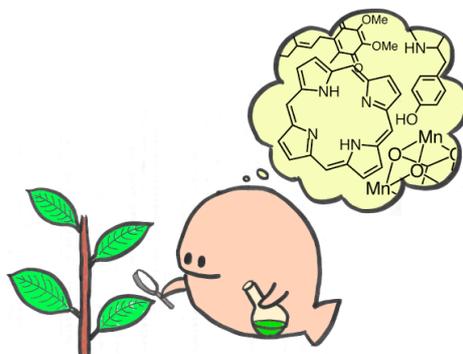
分子スケールナノサイエンスセンター・永田グループでは、「人工分子を使って光合成系を組み立てる」という研究に取り組んでいます。

実際の研究は、ある機能を期待して分子を設計して、それを合成化学のテクニックを駆使して実際に合成し、できた分子がどのような性質を持つかを調べる、という作業の繰り返しです。この繰り返しの中から、人工分子で光合成系を組み立てるのに必要なノウハウが少しずつ明らかになってきます。

今回の体験入学では、光合成の最も重要な初期過程である「光励起電子移動」を起こす分子を合成してみます。2日間の短い体験ですが、私たちが普段どんなことを実験室でやっているのか、どんなことに一喜一憂しているのか、というのを垣間見ていただけたらと思います。

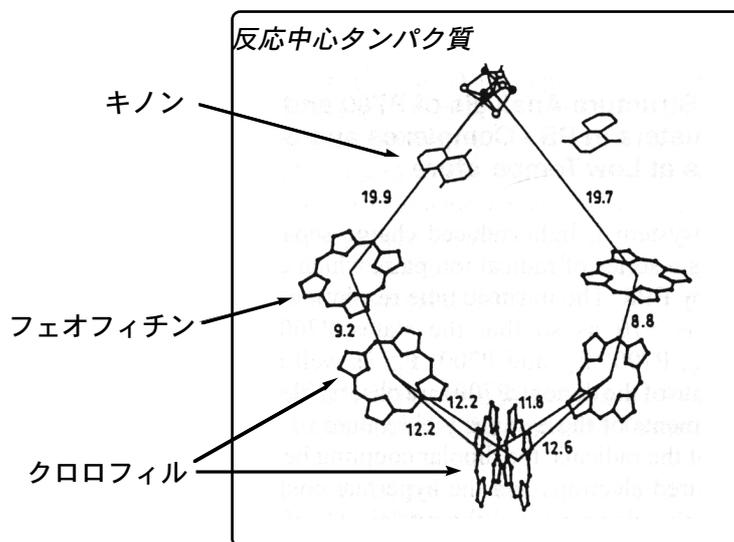
実験を一通りやってみるだけでも十分な体験なのですが、せっかく研究所まで来たのに手ぶらで帰ってもらうのももったいない話なので、このテキストを作ってみました。今回の実験の背景、合成に使う化学反応、実験手法などの解説が書いてあります。2日間の間に、すみずみまで理解する必要はありません。重要なことは当日に全部説明するので、予習する必要もありません。むしろ、実験が終わった後で、疑問に感じたことや興味を持ったことを自分で勉強したいと思った時に、手がかりとして活用していただければと思います。

それでは、始めましょう。



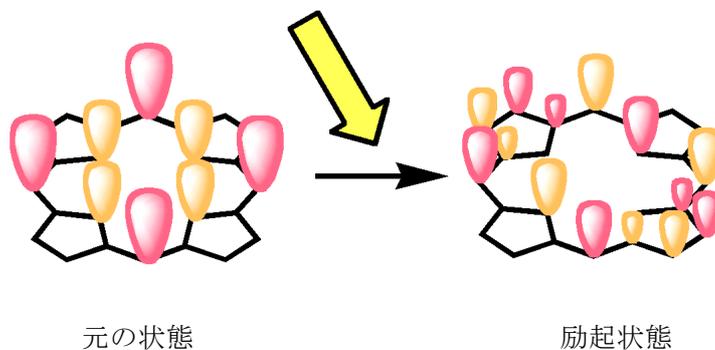
2. 光合成のしくみ

植物の光合成は、たくさんの過程が複雑にからみ合った巧妙なシステムです。中でもとりわけ重要で興味深いのは、光エネルギーを吸収する過程です。天然の光合成系では、この過程に「クロロフィル（葉緑素）」という分子と、「キノン」という分子が関わっています。「光合成反応中心」と呼ばれるタンパク質複合体の中にこれらの分子が埋め込まれ、光エネルギーの獲得のために働いているのです。



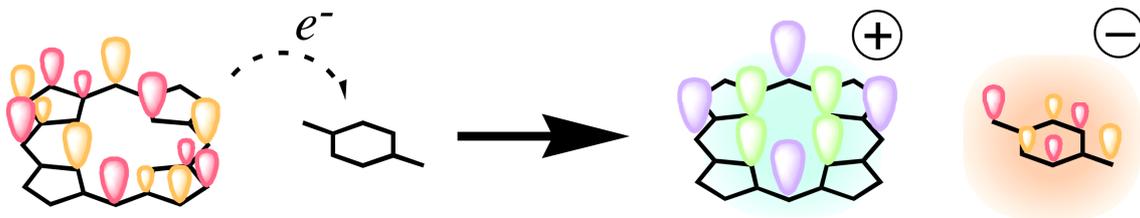
反応中心タンパク質の中に埋め込まれた分子の配置図。フェオフィチンはクロロフィルの仲間で、クロロフィルの中心に結合しているマグネシウムが外れたもの。
(Witt et al. 1995)

それでは、これらの分子に光が当たると何が起こるのでしょうか。まず最初に、クロロフィル（図の一番下にある2枚重ねのもの）が光を吸収して、普通よりもエネルギーの高い状態になります。この状態は、分子の中の電子が普通とは違う配置になっているもので、「励起状態」と呼ばれます。



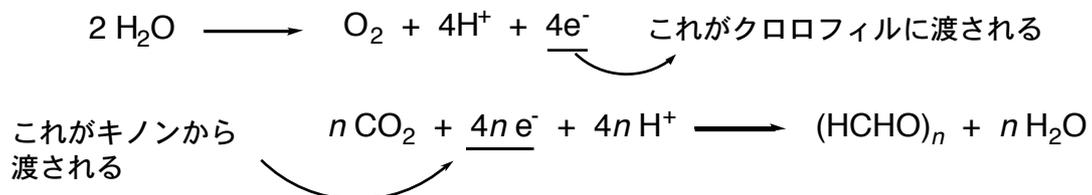
補足説明：あらゆる分子は原子核と電子からできていて、電子はある決まった確率で分子内に分布しています。量子力学の定めるところによると、電子は分子内のどんな場所にも自由に分布できるわけではなく、原子核の位置＝分子の形が決まると取りうる分布も決まってしまいます。普通は、電子は分子全体のエネルギーが一番低くなるような分布をとっていますが、光のエネルギーを吸収すると、吸収したエネルギーの量に応じて高いエネルギーの分布をとれるようになります。これが「励起状態」です。

さて、励起状態の分子は、普通の分子よりも高いエネルギーを持っているため、普通の分子ではできない化学反応が可能になります。光合成反応中心では、クロロフィルの励起状態から電子が1つ飛び出し、他のクロロフィルやフェオフィチンを経由して、キノンに渡されます。光でできた励起状態からの電子移動なので、「光励起電子移動」といいます。



(e^- は電子を表します。)

この一連の過程を経て、反応中心には「電子が一つ足りないクロロフィル」と「電子を一つ余分に持ったキノン」ができたこととなります。ここから先にもとても複雑な過程が存在するのですが、最終的には、クロロフィルが失った電子は水分子から引き抜かれ、水は酸化されて酸素になります。また、キノンが得た電子は二酸化炭素に渡され、二酸化炭素は還元されて糖になります。これが、植物の光合成の全反応です。



3. 人工光合成の課題

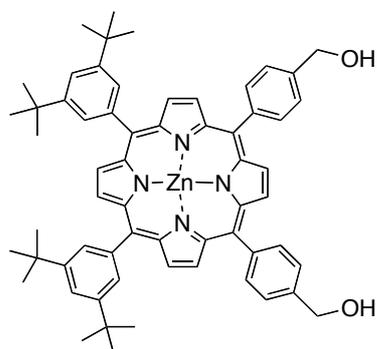
光合成を人工的に実現することは化学者にとって大きな目標と言えます。生物の光合成の分子機構が最近次々と明らかになっており、手本にすべきものは十分に揃っています。しかし、光合成は非常に複雑な過程であり、実現に至るまでに多くのハードルを越えなければなりません。

最も重要で困難なハードルは、水の酸化・二酸化炭素の還元を実現するための触媒開発です。これは遷移金属錯体を使うことで解決できると考えられていますが、まだまだ手探りの状態が続いています。もう一つの重要なハードルは、酸化系から還元系に向けて、電子をスムーズに移動させることです。人工の光合成システムで、酸化系と還元系を一つにまとめたものはまだ実現できていません。中間に電子を溜め込む部分が必要と考えられますが、この部分の研究は十分に行われているとは言えません。さらに、光の強度と化学反応の速度を合わせる機構、高エネルギーの中間体による自己損傷を防ぐ機構、など、たくさんの課題が残されています。

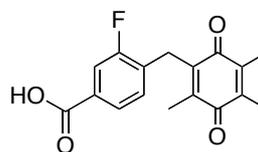
4. 今回の研究体験について

今回の体験入学では、私たちが取り組んでいる「(酸化系と還元系の) 中間で電子を溜め込む部分」の簡単なモデル系を合成してみます。

生物が用いているクロロフィルの代用化合物として、**ポルフィリン**の一種を使います。電子を溜め込む分子として、これも生物が用いているプラストキノンの代用化合物として、**キノン**の誘導体を使います。

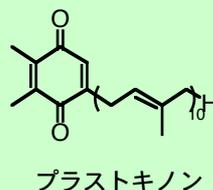
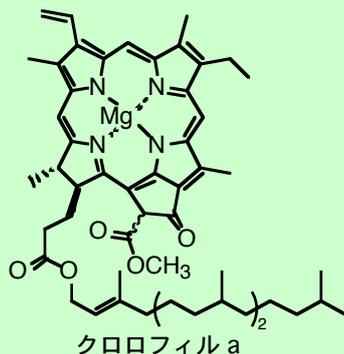


ポルフィリン

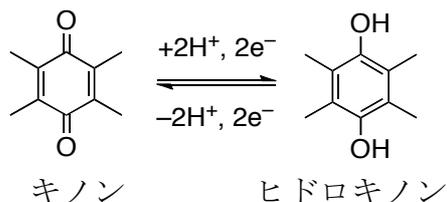


キノン

ちなみに、植物が使っている分子は下の通り。



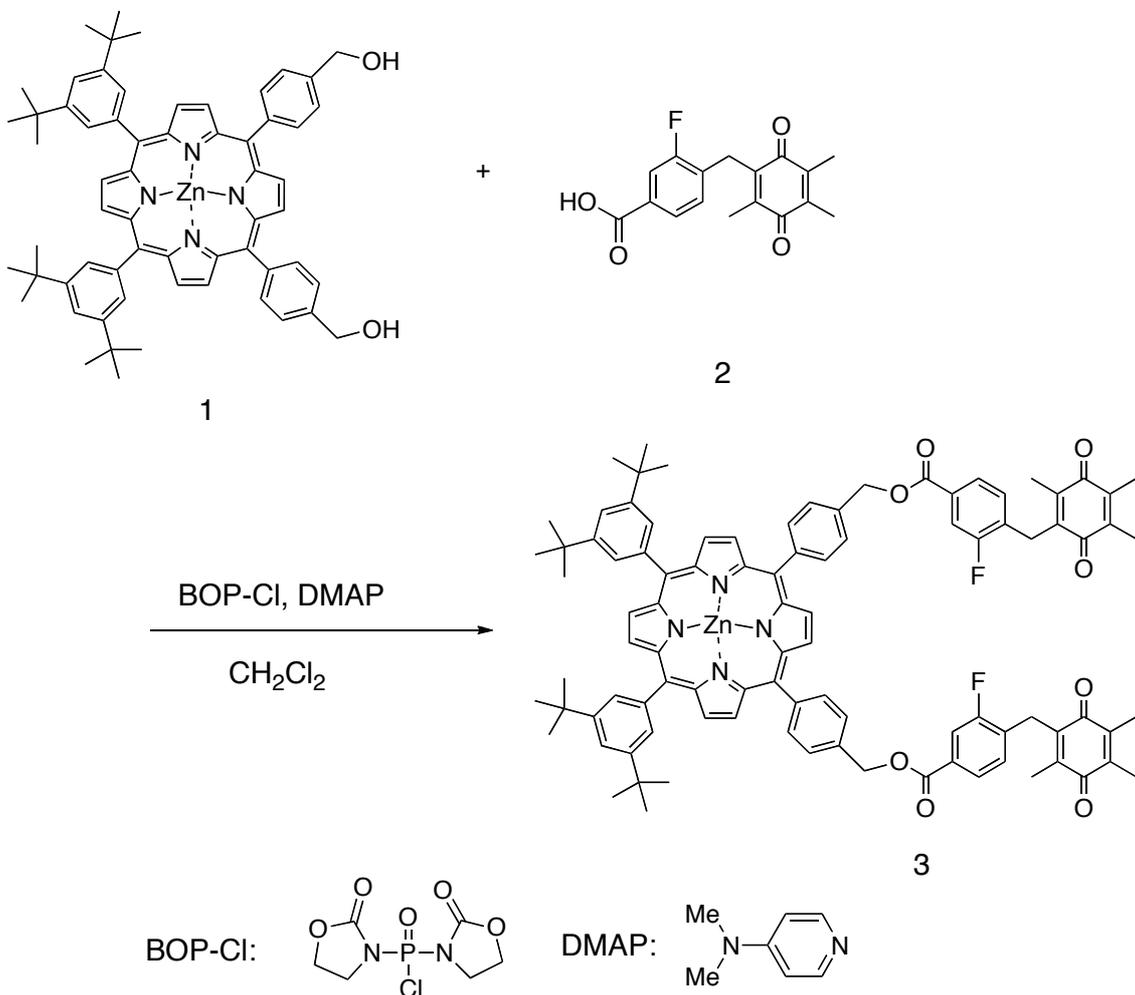
キノンは、電子2個とプロトン2個を受け取って、ヒドロキノン（キノールとも呼ぶ）になります。これらはどちらも安定な化合物であり、周囲の状況に応じて電子・プロトンの授受を伴って相互変換することができます。この性質を利用して、酸化系・還元系の間で一時的に電子を溜めておくことができます。



今回の実験では、ポルフィリンとキノンが結合した化合物の合成、およびその化合物を用いて「光反応でキノンに電子を溜める」実験をやってみます。

5. 実験手順

5-1. ポルフィリン・キノン結合化合物の合成



【手順】

- (1) オイルバスを 50°C に加熱しておく。
- (2) ポルフィリン **1** (38 mg, 40 μ mol)、キノン **2** (30 mg, 100 μ mol)、BOP-Cl (bis(2-oxo-3-oxazolidinyl) phosphonic chloride; 26 mg, 100 μ mol)、DMAP (4-dimethylaminopyridine; 30 mg, 120 μ mol)、ジクロロメタン (4 mL) を混合し、30 mL のナスフラスコに入れる。(BOP-Cl は発がん性があるため、必ず手袋を着用すること)
- (3) 還流冷却器をつけて、50°C で 5 時間かくはんする。
- (4) 生成物をシリカゲルの薄層クロマトグラフィーでチェックする (展開溶媒ジクロロメタン)。
- (5) 加熱をやめて、水を加える。生成物をジクロロメタンで抽出する。有機相を 5% 硫酸水素カリウムと水で 2 回ずつ洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥する。溶

媒をエバポレーターで留去する。

(6) 残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製する (ジクロロメタン / メタノール、v/v=99/1~95/5)。得られた化合物を $^1\text{H NMR}$, MALDI-TOF MS で同定する。

5-2. 可視紫外吸収スペクトル、発光スペクトルの測定

化合物 1 と 3 の可視紫外吸収スペクトルと、発光スペクトルをそれぞれ測定する。発光スペクトルは、550 nm 付近の吸収帯を励起して測定する。

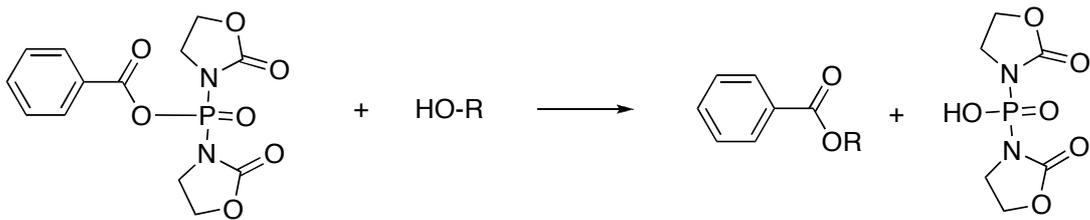
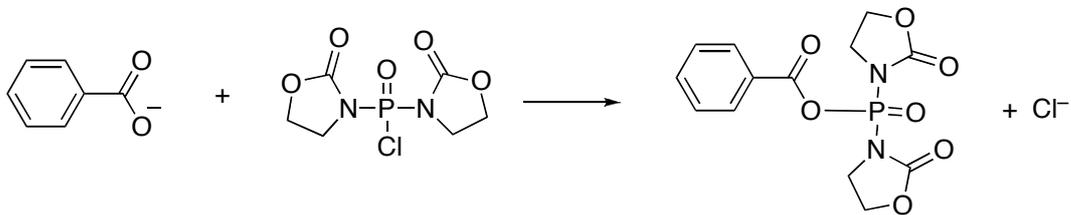
5-3. 光反応

化合物 3 (1.0 mg, 0.65 μmol) と 4-tert-ブチルチオフェノール (8.6 μL , 50 μmol) をグローブボックス中で CDCl_3 (0.6 mL) に溶かし、密封できる NMR 試料管に入れる (2本作る)。1本は暗所に保ち、もう1本に 500 nm 以上の光を照射する。1時間後、 $^1\text{H NMR}$, $^{19}\text{F NMR}$ を測定して比較する。

6. 補足説明

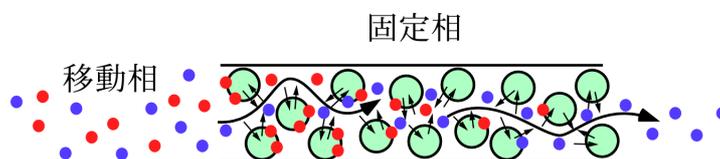
(1) 縮合剤の反応について

BOP-Cl は脱水縮合剤です。カルボン酸と活性エステルを作り、これがアルコールと反応します。



(2) 薄層クロマトグラフィー (TLC)

「クロマトグラフィー」は、混合物を分離するのによく使われる手法です。原理については、下の図を見て下さい。



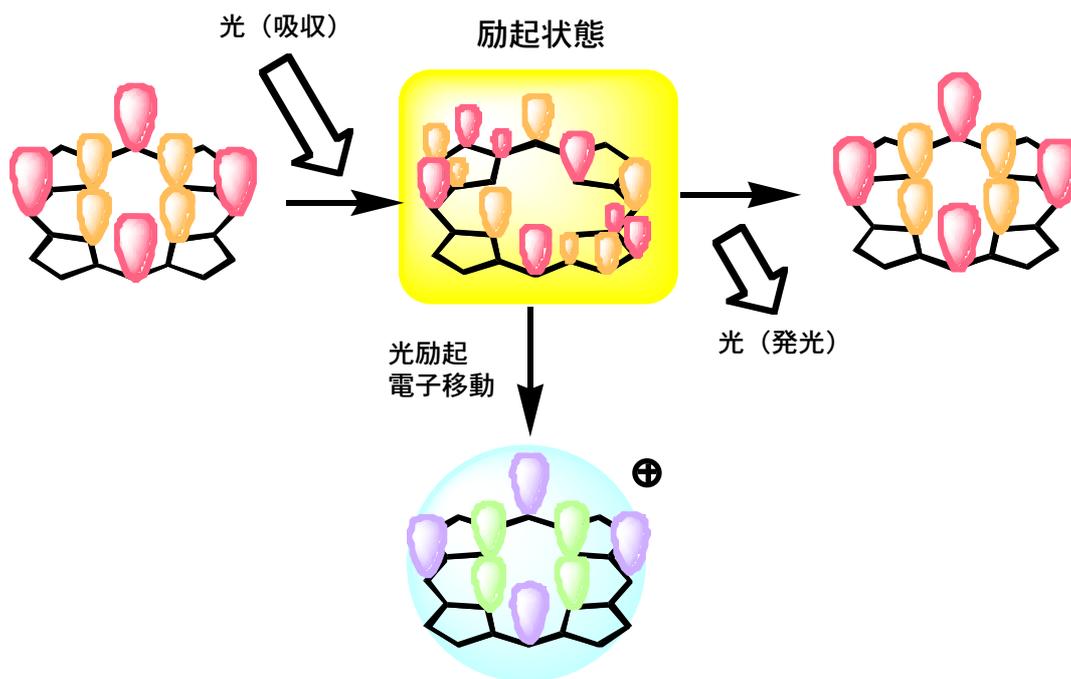
ある「固定相」（図では、固体の玉を管に詰めたもの）の間を「移動相」（混合物の溶液、場合によっては気体の混合物）が動いていきます。移動相に含まれる物質は、通り抜ける間に、固定相との間で吸着・脱離をくり返します。混合物の場合、物質の種類によって吸着されやすさが違うため、吸着されやすいもの（赤色の物質）は固定相に引き止められて動きが遅くなり、一方吸着されにくいもの（青色の物質）はあまり固定相に引き止められないため動きが速くなります。十分な長さの固定相を通過すると、赤色と青色の物質は完全に分離します。

今回使用するシリカゲルクロマトグラフィーでは、固定相はシリカゲルの細かい粉です。極性官能基（ $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ など）を持った物質がシリカゲルに吸着されて動きが遅くなります。固定相の種類、移動相に使う溶媒の性質などを選ぶことで、さまざまな物質を分離することができます。

(3) 紫外可視吸収スペクトル・蛍光発光スペクトル

吸収スペクトルとは、物質がどのような波長の光をどの程度吸収するかを表すものです。紫外線～可視光線の吸収スペクトルは、分子の電子状態を表すものです。光合成では分子が光を吸収することがすべての始まりになっているわけですから、どのような波長の光を吸収するのかが重要な情報です。

蛍光発光スペクトルというのは、物質の励起状態から放出される光を測定するものです。光励起電子移動が起きると、励起状態から光が放出される確率が電子移動の分だけ減少するので、蛍光発光が弱くなります。



6. いかがでしたか？

2日間では十分理解できないところもいろいろあったと思いますが、心配には及びません。プロの研究者としてやっている私たちも、最初に研究室に入った時は、自分が何をしているのかさっぱりわからず右往左往していたものです。とにかく手を動かしていろいろ実験をやっている間に、思いもよらなかった面白い結果が出て驚いたり、何度やってもできなかった実験がある日突然うまくいって小躍りしたり、そういう喜びに出会う時が必ずやってきます。

研究することの魅力に少しでも共感を覚えていただければ、嬉しく思います。

分子科学研究所・分子スケールナノサイエンスセンター
(総合研究大学院大学・物理科学研究科 兼担)

准教授 永田 央

0564-59-5531

E-mail: toshi-n@ims.ac.jp

Web: <http://licht.ims.ac.jp/>