

研究終了報告書

「蘇る太古の光合成タンパク質：量子効果の誕生」

研究期間：2020年4月～2023年3月

研究者：齊藤 諒介

1. 研究のねらい

地球生命史 38 億年を振り返ると、何度も地球環境が悪化している。そのなかには、太陽光が地表まで届きにくくなる日射量減少イベントがあった。約 6500 万年前の隕石衝突、約 2 億 5 千万年前の大規模火山活動、そして、約 7 億年前の全球凍結などである。光合成生物がこれらの日射量減少イベントを乗り越えるために、何らかの適応を迫られたはずである。その一つとして、光合成タンパク質における量子効果誕生による光合成エネルギー輸送の効率化が絡んでいるのではないかと、本研究では仮説を立てる。しかしながら地球生命史 38 億年の中で、生体量子効果がいつどのような地球環境で誕生したかは明らかにされていない、そこで本研究では、地球生命誌を記録した堆積岩を用いて、太古の光合成タンパク質様物質を調査することで、生体量子効果がいつどのような地球環境で誕生したかを明らかにする。そして、量子効果の誕生と、量子効果が誕生した当時の地球環境を調べることで、生命進化と地球環境がどのように相互作用してきたかを明らかにする。

一方、本研究の目的を達成するためには、化石や分子時計といった、これまでの手法では達成できない。化石には、分子化石から恐竜化石まで様々な大きさのものがあるが、これらからは起源や環境を示せても、生体機能的な進化までは示せない。また、分子時計では、見積りに大きな誤差が伴うため、当時起こった地球環境変動と 1 対 1 で対応させることができない。そのため、新しい研究手法が必要である。それは地圏試料中に存在するケロジェン(固体有機物)に含まれるタンパク質様物質の解析である。ケロジェンは、いかなる有機溶剤や無機溶剤にも不溶で、地圏中の有機物の～90%を占める。一方で、いかなる溶剤にも不溶であるため、そこからこれらの情報を引き出すのは容易ではない。近年の研究によると、ケロジェン中にタンパク質様物質が保存されていることがわかっている。しかし、地圏試料中のタンパク質を、非破壊的な方法で取り出した例はなく、どのようなタンパク質であるかもわかっていない。

本研究では、様々な手法でケロジェン中の光合成タンパク質様物質の抽出を試みる。タンパク質の抽出後、一粒子分光法により、抽出されたタンパク質の分光学的特性を調べることで、最終的に量子効果がいつの時代まで遡れるか明らかにして、生命進化と地球環境の相関性についての新しい知見を得る。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究では、地球生命史においていつ光合成タンパク質における量子効果が誕生したのかを調べるために、地質試料中の有機物の分光解析や光合成タンパク質の抽出方法の模

索を行った。研究期間中に2回の異動を伴ったことからまずは実験室インフラ整備を行った。続いて、様々な実験方法をケロジェンに対して試行する必要があったために、ケロジェン標準試料の作成を行った(研究テーマ A)。その後、作成したケロジェン試料等に対して、ケロジェンの分光解析(連携研究テーマ B、C)、ケロジェンの穏やかな条件における分解法探索(研究テーマ D)を行った。同時に、光合成生物が大きく進化するきっかけとなった大量絶滅イベント(2.5 億年前、2 億年前)の古環境の変化を解明するための研究も行い(研究テーマ E)、(研究テーマ B、C、D)で対象にしたケロジェンから得られる情報との関連性を得て、生命進化についての新たな知見を得られるようにした。さらに地質試料中の有機物の熟成過程を調べるために、量子化学計算を行った(連携研究テーマ F)。

【研究テーマ A】では数百回のケロジェン分解テストができる分量の標準試料作成に成功。【連携研究テーマ B、C】の蛍光分析では連携研究として同領域内外の研究者とともに、ケロジェンから光吸収-緩和過程や、光合成色素の検出に成功している。【研究テーマ D】のケロジェンの穏やかな条件における分解法探索では、様々な溶媒の組み合わせを試行し、どのような溶媒の組み合わせが良いかスクリーニングを実施した。抽出された物質の中から、光合成タンパク質に由来する物質を検出することに成功している。【研究テーマ E】の地球生命史・古環境史解析では、2.5 億年前の光合成生物を大きく変容させたペルム紀末大量絶滅事変や 2 億年前の三疊紀末大量絶滅を対象に、陸域と海域の絶滅のタイミングのずれや陸域生態系の絶滅からの回復タイミング、大量絶滅のメカニズムを明らかにすることに成功している。【連携研究テーマ E】の量子化学計算では、地質試料中の有機物の分布の再現に成功しつつある。成果として 8 本の論文を投稿し、2022 年度までに 5 本が出版済み、1 本が査読中の状態である。2022 年度に投稿したが 2022 年度内の出版が間に合わず、2023 年の 4 月、5 月に主要国際誌(*Nature communications*, *Earth and Planetary Science Letters*)で出版されたものが 2 本ある。

(2) 詳細

【研究テーマ A「ケロジェン標準試料の作成」】

- ◆標準品を定める上での基準は、下記の 4 つであった。
 - ・大量(>10kg)に採取できる(つまり、野外から採取しやすい試料)
 - ・有機物濃度が高い(>10%)
 - ・熱変質をあまり受けていない(石油生成帯程度)
 - ・海成の堆積岩(陸成は酸化されているため)
- ◆4 つの基準を満たす岩石は国外にしかないため、当初は国外で採取予定であった。しかし、コロナ禍により採取ができなかった。(2022 年 8 月に英国にてようやく採取できた。)
- ◆その代替として、2020 年に国内有数の石油生産地である新潟県寺泊層【新第三紀(約 2,300 万年前から 260 万年前)】にて、有機物濃度約 1%の試料を採取した。
- ◆新潟県寺泊層から 20kg ほどの地質試料採取を行い、ケロジェン標準試料を数百 g 準備した。1回の実験で用いるケロジェンの試料は 1g前後であるため、数百回以上は試行できる量である。
- ◆その他、標準試料とするには量的には少ないが、既持の試料を用いて 2.5 億年前や 1 億

年前の試料等のケロジェンを作成した。

【研究テーマ B「ケロジェンの蛍光分析」-2 期近藤氏らとの連携研究】

◆ケロジェンからのタンパク質様物質の抽出および分析は誰も成功したことがなく、技術的難易度が非常に高いため、まずはそれよりも技術的難易度の低い地質試料の蛍光分析を行った。

◆これは 2 期近藤氏や東北大学理学部化学科・柴田柴穰准教授と連携して行った。

◆地質試料のケロジェンの蛍光寿命からはケロジェンの光吸収-緩和過程が明らかになった。

◆蛍光スペクトルからはケロジェン中に光合成タンパク質由来の色素分子が含まれている可能性が明らかになった。

【研究テーマ C「貝池堆積物の蛍光分析」-2 期近藤氏との連携研究】

◆この研究では堆積物中の有機物の蛍光分析により、色素解析が行えるかどうか調べるために鹿児島県甕島に位置する貝池の湖堆積物を採取した。

◆鹿児島県甕島に位置する貝池は水深 5 m 以深で無酸素環境となっている湖である。これの蛍光分析を行うことにより、無酸素化した太古の海洋のアナログとなる蛍光分析データを得ることができる。

◆湖の浅い深度から最大深度である 11 m までの堆積物を採取し、蛍光分析によって各深度における堆積物中の有機物の色素解析を行ったところ、水深の浅いところの堆積物は酸素発生型光合成生物の色素が、深いところはそれに加えて酸素非発生型光合成生物の色素の蛍光スペクトルが観察された。

◆これまで堆積物への蛍光分析による色素解析、特に太古の海洋のアナログとなるような湖での先行研究例は皆無であった。従って、本研究により蛍光分析によって酸素発生型・非発生型光合成生物の判別ができることが初めてわかり、地質時代のケロジェンへの適用に期待が持てることがわかった。

【研究テーマ D「ケロジェンの穏やかな分解」】

◆本研究の目的を達成する上での必要な技術は、ケロジェンを穏やかな条件下で分解することであった。これまでは熱分解や強力な酸化剤を使った分解が行われてきたが、これらの方法では、タンパク質が存在していたとしても分解過程で著しく分解されてしまう。

◆そこで本研究では、様々な溶媒の組み合わせによって室温での分解を試みた。試行した方法は加熱する必要もなく、また、ケロジェンの共有結合が破壊されることなく分解するので、これまでの研究の中で、一番穏やかな分解方法である。

◆分解生成物を調べたところ、光合成タンパク質に由来する色素(ポルフィリン)を発見した。また、分解生成物中には第二級アミンの存在が示唆された。

【研究テーマ E「地球生命史・古環境史解析」】

◆本研究のもう一つの目的は、光合成生物が劇的に進化した時代の古環境の変化を解明

することであった。これにより古環境の変化と生命進化の関係について明らかにできるという狙いがある。

◆2.5 億年前のペルム紀末大量絶滅前後、および、2 億年前の三畳紀末大量絶滅前後における絶滅過程について、以下のことを明らかにした。

1) 2.5 億年前に発生したペルム紀末大量絶滅直後の時代においても、海洋生態系崩壊が繰り返し起こっていたこと(*Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 600, 111077, 2022: *Earth and Planetary Science Letters*. Accepted, 2023)

2) 2.5 億年前に発生したペルム紀末大量絶滅の堆積岩からクロロフィル分解生成物の検出(*RSC Advances*. 12, 31061-31067, 2022)

3) 2.5 億年前のペルム紀末の大量絶滅の際に、まず陸域で生態系の崩壊が起こり、続いて海域での大量絶滅が起こったこと(*Global and Planetary Change* 195, 103327, 2020; *Global and Planetary Change* 205, 103621, 2021: *Nature Communications*. 14, 1-8, 2023)

4) 2 億年前の三畳紀末大量絶滅の際に、日射量減少や地球寒冷化などにより生物の大量絶滅を引き起されたこと(*Earth and Planetary Science Letters*. 579, 117364)

5) 2.5 億年前の炭酸塩堆積物の新たな堆積メカニズムの提唱(*Global and Planetary Change*. in revision)。

【連携研究テーマ E】「地質試料中の有機物の量子化学計算」—2 期東氏らとの連携研究

◆地質試料中の有機物の分布については主要な有機分子ですらも未だ理論的に説明されていない。

◆本テーマでは、分子理論化学を専門とする 2 期東氏の力を借りて、まずは主要な有機分子について量子化学計算を行っており、地質試料中の有機物の分布を説明する成果が得られつつある。

3. 今後の展開

◆ケロジェンの穏やかな分解生成物に含まれるタンパク質由来の物質は主に二級アミンで構成されていることがわかったため、分解生成物中に光合成タンパク質は入っていたとしても極僅かであり、そのままでは分析できないことがわかった。そこで、一つ一つのタンパク質を効率良く解析するためにマイクロ流路分光を用いた、新しい 超高感度ハイスルーブット分光法が必要である。現在、この手法を開発する計画を、同領域の近藤徹氏らと立て、新たな課題として挑戦している。これにより、含有する全タンパク質を一網打尽に解析し、現存種には見られない光学特性を示す光合成タンパク質を探索する。これは次の4年のうちに実現する。

◆ケロジェンの穏やかな分解生成物溶液中には多量の未知物質が含まれている。これらの有機物の特徴づけを行って、新たな地球生命史・環境史解読のツールとしての有用性を次の4年のうちに探索する。

4. 自己評価

【研究目的の達成状況】

◆2 回の「研究室立ち上げ」、「ケロジェン標準試料作成」は達成できた。

◆「ケロジェンから光合成タンパク質の抽出」は、①ケロジェンを世界で初めて室温で穏やかな分

解に成功し、かつその分解生成物中に光合成タンパク質由来の物質が含まれていたこと、それから②蛍光分析による光合成タンパク由来物質の確認ができたこと、この2点の達成はできた。

◆しかし、光合成タンパク質由来物質は抽出できたが、光合成タンパク質自体の抽出には成功できなかった。これはケロジェン中に含まれていた光合成タンパク質の大部分が変質を受けて、無傷で保存されているものがあつたとしても極わずかであるためである。この極わずかな可能性を追求するためにはマイクロ流路分光を用いた、新しい 超高感度ハイスループット分光法が必要である。現在、この手法を開発する計画を、同領域の近藤徹氏らと立て、新たな課題として挑戦している。

【研究の進め方(研究実施体制及び研究費執行状況)】

◆本研究開始は同期と比べて半年遅い2020年度スタートであった。これは、海外学振の研究者としての任期を考慮してのことであった。研究開始当初は米国から東京大学へ異動したが、その後半年間、コロナ流行初期と重なり大学に行くことすらままならなかったためにその期間は実験計画や物品選定などを中心に研究を行っていた。その4ヶ月後には山口大学へ異動し、その後の1年で研究室として稼働できるように実験室のインフラ整備を行った。このようにさきがけ研究の実施にあたっては四苦八苦する期間が長かったが、現在では研究環境も整い、学生さんも参画し始めたので研究の進展速度が上がってきている。

◆さきがけ領域内外の研究者の助言のもと、研究を実施していた。また、月1回のミーティングを領域内の近藤氏、東氏、大畠氏、藤橋氏で行い、研究の進捗や方向性などを確認していた。

◆研究費は当初の計画通り、質量分析計などの購入費として使用した。また、研究室を新たに立ち上げる際にはスタートアップ支援を採択していただき、実験室のインフラ整備に充当させることができた。

【研究成果の科学技術及び社会・経済への波及効果】

◆ケロジェンは地層中の有機物の90%以上を占めるため、ケロジェンの穏やかな分解方法は地層からより多くの化石燃料を回収するための一助となる可能性がある。

◆ケロジェンは化学反応性に乏しい堅固な固体有機物なので、地球以外の惑星(例えば火星)においても分解されることなく保存される可能性が高い。従って、そのような惑星探査で生命の痕跡を探る際に有力な候補となる。火星でもケロジェンが発見されているがその起源がわかっていない。火星のケロジェンに今回の手法を試したことはないが、ケロジェンの穏やかな分解法はケロジェンを高度に特徴づけることのできる方法になる可能性がある。従って、地球外惑星のケロジェンの起源、特に生命起源関係の研究に役立つかもしれない。

◆石油などの化石燃料の探査においても、ケロジェンの分解生成物の分析は、化石燃料の起源に新たな知見をもたらすため、有用な可能性がある。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数:5件

1. **R. Saito***, L. Tian, K. Kaiho, S. Takahashi. Biomarker evidence for the prolongation of multiple phytoplankton blooms in the aftermath of the end-Permian mass extinction.

<p><i>Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology</i>. 2022, 600, 1-7.</p>
<p>2.5 億年前に発生したペルム紀末大量絶滅直後の時代である前期三畳紀の堆積岩に含まれる有機分子を分析し、海洋生態系崩壊を示す分子化石が含まれることを明らかにした。さらに、前期三畳紀における大規模火山活動の記録と照らし合わせることで、これら海洋生態系崩壊を示す分子化石が、大規模火山活動と同時に発生していることを発見し、海洋生態系の崩壊が火山活動と関連があることを推定した。</p>
<p>2. R. K. Biswas, K. Kaiho*, R. Saito, L. Tian, Z. Shi. Terrestrial ecosystem collapse and soil erosion before the end-Permian marine extinction: Organic geochemical evidence from marine and non-marine records. <i>Global and Planetary Change</i>. 2020, 195, 1-14.</p>
<p>2.5 億年前のペルム紀末の大量絶滅の際に、まず陸域で生態系の崩壊が起こり、それに伴う土壌流出イベント後に海域での大量絶滅が起こったことを明らかにした。草本植物(木本植物ではない)の原始的な回復は、ペルム紀末の海洋絶滅から数万年後に起こり、それは地球温暖化の極大期と海洋がまだ無酸素状態の時期に一致していた。</p>
<p>3. K. Kaiho*, D. Tanaka, S. Richoz, D.S. Jones, R. Saito, D. Kameyama, M. Ikeda, S. Takahashi, Md. Aftabuzzaman, M. Fujibayashi. Volcanic temperature changes modulated volatile release and climate fluctuations at the end-Triassic mass extinction. <i>Earth and Planetary Science Letters</i>. 2022, 579, 1-12.</p>
<p>堆積岩の加熱実験や堆積有機分子の種類の変化から、2 億年前の三畳紀末大量絶滅が次のプロセスで起きたことを提唱した。大規模火山活動のマグマが、比較的低温で堆積岩を加熱した結果、大量の二酸化硫黄が生成。生成された二酸化硫黄が成層圏に入り、硫酸エアロゾルを形成。硫酸エアロゾルが太陽光を反射し、光合成阻害や地球寒冷化などにより生物の大量絶滅を引き起こした。</p>

(2) 特許出願

研究期間全出願件数:0 件(特許公開前のものも含む)

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

【学会発表】

- [1] 温 祐貴, 佐藤 啓文, **齊藤 諒介**, 東 雅大, “DFT 計算によるコレスタンの立体異性体の解析”, 日本化学会第 103 春季大会 2023 年 3 月 25 日 (口頭発表).
※2 期東氏との連携研究成果
- [2] **齊藤 諒介**, “ケロジェンに記録された古環境情報の抽出法探索”, 2022 年度久慈発掘調査夜会 2022 年 3 月 24 日 (口頭発表)
- [3] **齊藤 諒介**, “地球史における原核光合成生物の分子化石の分布とその意義”, 第 2 回原核光合成生物シンポジウム 2023 年 3 月 14 日 (招待・口頭発表)
- [4] T. Ishikawa, **R. Saito**, T. Kondo. “太古岩石試料中の光合成色素の顕微分光分析”, 第 60 回日本生物物理学会年会 2022 年 9 月 28 日 (ポスター発表)
※2 期近藤氏との連携研究成果
- [5] **齊藤 諒介**, “堆積有機分子を活用した地球生命史イベントの復元”, 日本地質学会第 129 年学術大会 2022 年 9 月 4 日 (招待講演)