

松本 拓也：藻類学ワークショップ II 「藻類色素の HPLC 分析入門」参加記

藻類学ワークショップ II 「藻類色素の HPLC 分析入門」は、日本藻類学会第 34 回大会期間中の 2010 年 3 月 21 日～22 日に行われました。講師は京都大学の宮下英明先生で、参加者は私を含めて 10 人でした。色素組成は、光合成生物の分類マーカーの 1 つとして重要で、分類群ごとに特徴的な色素がいろいろと報告されています。まだ色素について調べられていない種類も多く、その色素分析を行い、色素組成を明確にすることにより、分類学的知見の拡充に大きく役立つことでしょう。これまで学ぶ機会のなかった色素解析を学べる良いチャンスということで、参加しました。

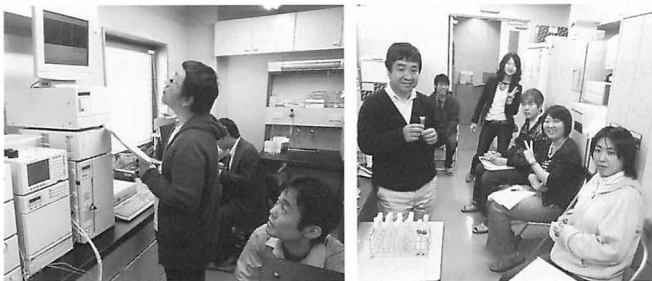
初日は、筑波大学の講義室で色素解析とは何か？ということを講義していただきました。参加者の多くは、色素解析に全くか、ほとんど関わったことがなかったのですが、宮下先生にわかりやすく説明して頂きました。初めに、色素の構造、そして各色素の働きについて講義していただきました。一般的な色素であるクロロフィルについては、特に詳しく講義していただきました。クロロフィルは、フィオフィチン、クロロフィリドといったクロロフィル合成中間体や、分解生成物へと簡単に変化してしまいます。これらの物質は、解析に用いたサンプルの調製がうまくいっていないと HPLC 分析において検出されてしまい、サンプル調製が迅速に行われなかったという指標にもなります。カロテノイドやフィコビリナンパク質についても、各色素に特徴的な波長パターンについて、実際の解析結果を示しながら解説していただきました。また色素解析に用いる機材や方法に関する講義では、色素解析によって得られる結果が、用いた「分析方法」や「材料」によって大きく変わり得ることつまり自分の調べたい色素やサンプルに合わせて、「抽出方法」や「抽出溶媒」や「カラム」や「HPLC の分析系」を選択する必要があります。ここでは、有名ないくつかの系について解説していただき、いずれもメリット、デメリットがあって、自分の目的に合わせた選択の必要なことを学びました。二日目は、国立環境研究所の環境生物保存棟で実習形式で行われました。まず実

際の HPLC 検出機を示しながら、検出機の説明と各部分の働きについて説明していただきました。ここでの実習内容は、生物名を伏せたいろいろな培養株について色素組成を分析して、それがどの生物かを決定するクイズのようなものでした。培養株は、国立環境研究所の微生物系統保存施設からこのワークショップのために提供いただいたものです。参加者にそれぞれ違うサンプルが配布され、各自で色素解析を行いました。講義で聞いた限りでは、色素の抽出は簡単そうでしたが、実際はうまくいきませんでした。まず、多くの参加者は細胞の回収でこずりました。それぞれの生物種の特徴に合った回収方法で集めないといけません。例えば、細胞の小さい生物種やサンプルの濃度が薄い場合では、遠心分離機での回収は難しいため、細胞をガラスフィルター上に吸引濾過することで細胞を回収します。細胞を回収した後は、溶媒（メタノール）を加えて色素を抽出しました。この抽出に関しても生物種によって工夫を凝らす必要がありました。例えば、*Chlorella* のような細胞壁の厚い生物では、溶媒を加えただけでは、全ての色素を抽出することは困難です。このような生物では、溶媒を加えたのちに、超音波破碎機を用いて物理的に細胞を破碎し色素を抽出する必要があります。「色素を抽出できれば、解析の山場は越えたようなもの・・・」と宮下先生がおっしゃっていたように、この過程は確かに大変でした。さて、色素を抽出出来れば後は HPLC にかけて待つだけです。HPLC が解析を行っている待ち時間の間に、環境生物保存棟の微生物系統保存施設の見学ツアーを開催していただきました。解析が終わると、参加者それぞれで波形を確認しながら、必死に参考文献に記載されている波長と自分たちの出した波長を見比べながら同定を行いました。しかし素人が波形を見ても、すぐに色素を同定できるはずもなく、かなりの時間がかかってしまいました。宮下先生の新幹線の時間ギリギリになってしまいました。全員が各々のサンプルの色素を同定できました。

今回のワークショップは、2 日間という短い期間でしたが、楽しく色素分析について学ぶことができました。自分で文献を調べて勉強するだけでは身につかなかった解析の実際についての様々な注意点を、色素分析を専門にされている先生に学べて、とても貴重な体験になりました。

最後になりましたが、今回のワークショップの講師の京都大学の宮下英明先生とアシスタントとして実習をお手伝いいただいた京都大学の久保智司さん、そして世話人として準備、運営を行っていただいた河地正伸先生に心より感謝申し上げます。

(筑波大学大学院生命環境科学研究科)



左 HPLC の前で波形をチェックしている久保さん。
右 色素の抽出について説明されている宮下先生と参加者。