1. カロテノイド

1-1 研究の歴史

カロテノイドに関する研究は19世紀の初頭、ヨーロッパにおいて始まっている。食用の赤ピーマン（パプリカ）、サフラニンの花、ニンジンの根などの赤い色素について、古典的な有機化学的手法による研究が始まった(Eugster 1995)。しかし、当時の手法では分解しやすい脂溶性色素という結果に留まっていた。1831年に、ニンジン（carrot）の根から結晶化した物質（β-カロテンと思われる）にカロテン（carotene）という名称がつけられ、1837年に、紅葉から抽出した黄色い色素（ルテインと思われる）のためにキサントフィル（xanthophyll）という名称がつくられた（xantho：黄色、phyll：葉)。1911年に、両者を含めたカロテノイド（carotenoid）という名称がつくられ、用いられている。

20世紀の初頭1907年には、β-カロテンとα-カロテンの混合物の分子式$C_{40}H_{56}$、緑葉のキサントフィルの分子式$C_{40}H_{56}O_2$などが決められた。有機化学の発達に伴い、1928年にはカロテノイドに共通した中央部分の共役二重結合と側鎖のメチル基の存在が明らかにされ、1930年にはリコペン、β-カロテン、ルテインなどの両側の末端基の構造が明らかにされた。また、化学合成ポリエン化合物を使って、共役二重結合の数と色の関係も研究されはじめた。同じころ、カロテンにはビタミンAに変換しうるプロビタミンA活性があることがわかり、ビタミンA（レチノール）の構造も決定された。また、身近な植物ばかりでなく、細菌、菌類、藻類、動物にも種々のカロテノイドが存在することが明らかになった。

1950年代には、いくつかのカロテノイドの全化学合成がなされた。1960年ごろから核磁気共鳴（^{1}H-NMR）が使われはじめ、化学構造の決定の精度が向上した。1970年ごろから円偏光二色性（CD）を用いて立体構造が決められるようになった（5章参照)。構造式が決定されたカロテノイドは、1934年には11種類であったが、1948年には31、1971年には273、1987年

『カロテノイド』（高市真一 編集／裳華房）

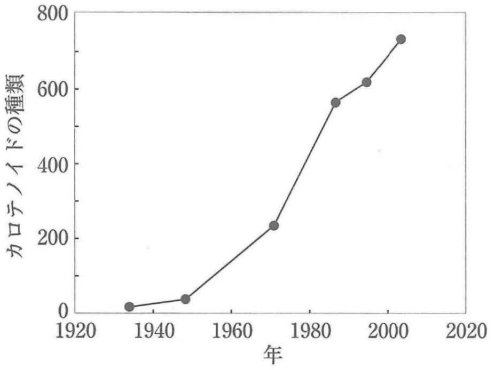


図 1-1 構造決定されたカロテノイドの種類

には 563、1992 年には 617 に増加した。2004 年出版の本には 732 種類が記載されている（図 1-1）。

1980 年代までは、天然物化学としてのカロテノイドの研究、すなわち植物、動物、細菌などの生物界における分布、化学構造の決定などがおもな研究であった。一方、光合成生物においては、カロテノイドがクロロフィルとともに光捕集色素として機能していることが古くから良く知られていたが、その分子的な機構の解析は測定手段が乏しく、発展が遅れていた。また、カロテンのプロビタミン A への転換機構は、1960 年代には概ね明らかにされたが、その反応を司る酵素の実体は不明であった。しかし、1980 年代から他の研究分野において、さまざまな新しい分離技術の開発、新しい分析機器の開発があり、それらを使った新しいカロテノイドの研究が始まり、1990 年代に入って急速な進歩を遂げている。また、アメリカを中心に動物、とくにヒトにおける抗酸化作用などの生理活性が研究され、大規模な疫学的研究、介入試験なども行われている。

1-2 日本における研究の歴史

日本においては、山本 亮らが 1930 年代に、パパイヤから β-クリプトキサンチン [55] の単離を試みた。その後、水産生物を中心にカロテノイド研究が進められた（日本水産学会 編『水産動物のカロテノイド』(1978) 参照）。山口 勝らは 1950 年代末に、ダイダイイソカイメン（海綿動物。口絵

図Ⅰ-2参照）から世界に先駆けて芳香環をもつイソレニエラテン［24］などを分離・同定した。1970年ごろから、松野 隆を中心とするグループによって、海綿動物（カイメンなど）、棘皮動物（ヒトデ、ウニなど）、軟体動物（カイなど）、節足動物（カニ、エビなど）など海産動物のカロテノイド分布および代謝経路が研究された。また、魚類についても、淡水魚（コイ、ナマズなど）、海水魚（タイ、ハギなど）ともに精力的にカロテノイドの分布と生物分類の関係が研究された。さらに、投与実験により代謝経路が研究され、酸化的代謝経路ばかりでなく還元的代謝経路の存在も見出された。これらの成果は、実用面での養殖魚（マダイ、ギンザケなど）、甲殻類（クルマエビなど）へのカロテノイド投与による体色改善“色揚げ”に使われている。また原島圭二らは、1970年代から昆虫のアゲハチョウ蛹のユニークなカロテノイド、パピリオエリトリノン［392］を同定し、保護色とカロテノイド組成の関係も研究した。

近年、光合成生物におけるカロテノイドの機能、とくに光吸収による励起状態など物理化学的性質の研究が、海外と同様に進められている。また、細菌パントエア（旧名：エルビニア）の全カロテノイド生合成遺伝子の単離が世界に先駆けてなされ、さらにパラコッカスの１種（旧名：アグロバクテリウム）でもすべてのカロテノイド生合成遺伝子が単離された。発がん予防、抗腫瘍作用、免疫賦活能、抗酸化作用などは、動物実験のレベルではあるが研究が進み、またヒトに対する疫学的研究も日本でも精力的に進められている。フコキサンチン［369］、ペリジニン［558］など複雑な構造をしているカロテノイドの全化学合成もなされた。光合成細菌、藻類、海産動物などから多数の新規カロテノイドの構造決定もなされた。

1-3　研究の現状

最近の研究はさまざまな方面で行われているが、とくに以下の内容が注目される。

① **カロテノイド生合成遺伝子**：光合成細菌（ロドバクター）と好気性細菌（パントエア）をはじめとする数種の細菌から、カロテノイド生合成に必要なすべての遺伝子が単離・機能解析され、また他の細菌、シアノバクテリ

2. 植物における機能と生理活性

植物は、歴史的には「独立栄養生物」と同義と解され、そのため植物には化学合成細菌や光合成細菌なども含まれる。独立栄養生物でのエネルギー獲得代謝系でもっとも大規模な反応は光合成である。食物連鎖の原点で、地球上のほぼすべての生命を支える代謝活動であり、また、生物進化の原動力にもなった反応系である。この反応系は、光という物理的なエネルギーを、生物が使うことのできる電気化学エネルギー、さらには化学エネルギーへと変換していく過程である（三室 2000）。この過程では、電子移動を直接担うクロロフィル（光合成細菌にあってはバクテリオクロロフィル）がもっとも重要な機能をもつが、カロテノイドはクロロフィル同様に不可欠の色素として反応系に寄与する。

光合成生物は、太陽から供給される全エネルギーのわずか 0.3％程度を利用し、地球上での年間の第一次生産量は炭素として 1000～1200 億トンを固定していると推定されている。この生産量の約 0.1％がカロテノイドと推定されており、したがって地球上へのカロテノイドの年間の供給量は約 1 億トンと考えられる。このカロテノイドは、食物連鎖によって動物界へも供給される。カロテノイドは、動物においてもきわめて重要な機能（たとえ

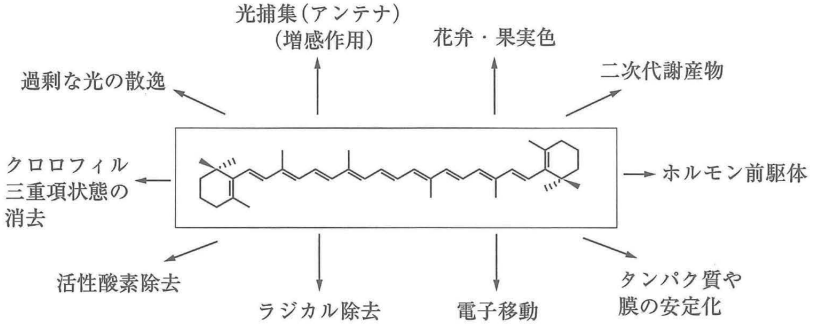


図 2-1　植物（独立栄養生物）におけるカロテノイドの機能
ここではもっともよく知られているカロテノイドである β-カロテンをモデル化合物として表現している。ただし、β-カロテンがこれらすべての機能をもつわけではない。

ば、視覚のための視物質）をもつ。動物は生合成系をもたないために、摂取したカロテノイドを代謝し、それぞれの生物にとって必要な分子種に変えた後で使う（3章参照）。地球規模でのカロテノイドの循環を考えるとき、光合成生物の第一次生産が原点であり、もっとも大きな寄与をしている。

植物は、光合成によってその生命維持に必要なエネルギーを獲得する（光合成反応系については2-1節参照）。カロテノイドとクロロフィルは光合成に必須の色素であり、植物の生命維持に不可欠である。カロテノイドは、光エネルギーを吸収して光化学反応の主体であるクロロフィルにエネルギーを渡す機能（増感）のほかに、過剰な光エネルギーをうまく逃がして細胞を護る機能（光傷害防御）もあわせもつ（図2-1。Mimuro & Katoh 1991；三室・秋本 1998）。カロテノイドは、光による障害の除去に本質的に関わっているために、カロテノイドを欠く光合成細菌や植物の突然変異体は、きわめて弱い光条件でだけ生育が可能である。これから理解できるように、光合成生物にはカロテノイドは必須である。また、二次代謝産物として特定の器官や細胞に蓄積され、その効能を利用することもできる。光合成細菌を含む植物では、光合成器官の中に150種類くらいのカロテノイドの存在が知られているが、光合成系で機能が確認されているカロテノイドはそのほんの一部である。この他にも、図2-1に示すように、カロテノイドは植物においてさまざまな機能をもつ。しかし、機能を実現する分子機構が解明されているのは、きわめて限定された分子種しかなく、機能が未知の分子種も数多く存在する。

この章では、機能とその反応機構が明らかになった分子を中心に解説を行う。

2-1　光合成系における生理機能

カロテノイドは光合成系において、(1) 光エネルギーを吸収するが自らは光化学反応を起こさず、光化学反応を起こすクロロフィルへ励起エネルギーを渡す増感剤（光合成系ではアンテナあるいは光捕集色素と呼ばれる）としての機能、(2) 過剰な光によってもたらされる傷害を防ぐ光傷害防御剤としての機能、をもつ（図2-1参照）。後者の反応は、アンテナ系のみならず、

光化学反応中心複合体（以下、反応中心と略す）や細胞質でも起こる。励起エネルギー移動は物理学的な過程であり、一方、光傷害防御には一重項酸素の消去などのエネルギー移動過程とラジカルの消去などの化学的な反応過程の両方がある。

2-1-1　光合成系の概要

光合成系におけるカロテノイドの機能やその反応機構を理解するためには、光合成反応系についての理解が必要となる。そこで、反応系の概略を図2-2に示す。

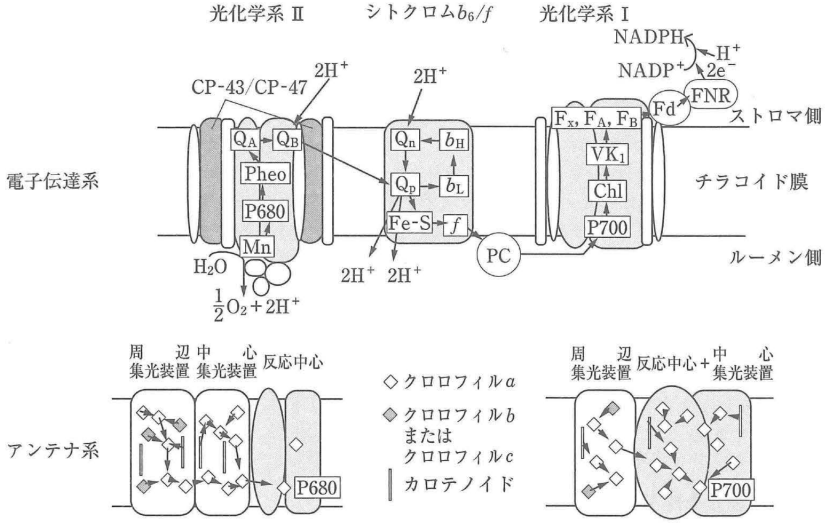


図2-2　光合成反応系の概要（三室 2002より改変）

酸素発生型光合成生物の葉緑体、またはシアノバクテリアの細胞質中のチラコイド膜上に存在する機能性複合体と、その構成成分の中で主要なものを示している。光化学系I、光化学系IIのアンテナ複合体中でのクロロフィルとカロテノイドの間でのエネルギー移動についても示している。

Mn：マンガンクラスター、P 680：光化学系II初発電子供与体、Pheo：光化学系II初発電子受容体、Q_A Q_B：光化学系II電子受容体キノン、Q_n：シトクロム b_6/f 上のキノン還元部位に結合したキノン、Q_p：シトクロム b_6/f 上のハイドロキノン酸化部位に結合したキノン、Fe-S：鉄―硫黄タンパク質、f：シトクロムf、b_L：低電位型シトクロムb、b_H：高電位型シトクロムb、PC：プラストシアニン、P 700：光化学系I初発電子供与体、Chl：光化学系I初発電子受容体、VK_1：フィロキノン、F_X, F_A, F_B：鉄―硫黄型光化学系I電子受容体、Fd：フェレドキシン、FNR：フェレドキシン―NADP還元酵素。

3. 動物における機能と生理活性

動物はカロテノイド合成系をもたないので、食物からカロテノイドを摂取し、それを代謝してさまざまな目的に使っている。陸上植物、藻類、菌類、細菌によって合成されたカロテノイドは、食物連鎖によって動物に摂取される。その間に分子構造はそのまま保たれたり、一部修飾を受けたり、分解されたりする。食物に含まれるカロテノイドの多様性やカロテノイド代謝系の違いから、動物におけるカロテノイドの分布は多種多様である。代謝能力は動物の進化によって異なっており、一般的には無脊椎動物から脊椎動物へ、また脊椎動物では魚類から哺乳動物へ進化するに従って、代謝能力が限定されてくる。

動物に共通したカロテノイドの代謝は、β-カロテン [3] を開裂してレチナールへ変換し、さらにレチノール（ビタミンA）へ還元することである。レチナールへ変換されうるカロテノイドはプロビタミンA（ビタミンA前駆体）と呼ばれ、生理学的にも栄養学的にも重要性である。β-カロテンを開裂してレチナールにする酵素 β-カロテン-15,15′-ジオキシゲナーゼとその遺伝子が最近ヒトを含む4種で同定され、生化学的な代謝の研究も進んでいる。また、レチノールとその類縁体を含む一群の化合物はレチノイドと呼ばれ、代謝や生理活性などの点でカロテノイドと密接に関連している。レチノイドについての詳細は、他の成書を参考にされたい（武藤 1997）。

近年、ヒトにおいてはカロテノイドと疾病との関連性が注目され、カロテノイドの代謝やカロテノイド自体の生理作用、薬理作用、高次機能性に関する研究が進められている。

カロテノイドは動物体内において、遊離型、脂肪酸エステル、タンパク質との複合体などとして存在する。細胞内および体液中に存在するが、組織に特異的なカロテノイドの蓄積も見られる。その機能を分子レベルで解明するためには、存在状態を詳細に知ることも必要になってくる。甲殻類のタンパク質複合体であるクラスタシアニンの三次元構造が解明され、カロテノイドの存在状態、物性、機能と構造の関係も明らかになりつつある。

3-1 生理作用

多くの魚類、鳥類、両生類、爬虫類では、カロテノイドは色や模様による威嚇、隠蔽、性的識別のための標識色素としての役割をもっている。しかし、動物におけるカロテノイドの生理作用については、充分な解析がなされているとは言いがたい。プロビタミンA活性（視覚、発生、分化）、抗酸化活性やラジカル消去作用などは比較的データが蓄積しており、生体防御、免疫賦活化作用、生殖機能維持作用、発がん予防などが現在確かめられつつある。

3-1-1 進化的意義

未だ充分な証拠は得られていないが、動物におけるカロテノイドの役割を進化論的観点から考えることができる。約20億年前に発生した原生動物は、水中に溶解している有機物や植物起源の食物を摂取した。同時に取り込んだカロテノイドを体表にもつことは、太古の強烈な紫外線や光を遮り、酸素による酸化やラジカルによる傷害を防ぐことができるため、生存に有利であったと考えられる。また、細胞内においても、ミトコンドリア画分やミクロソーム画分にカロテノイドが多く認められることも（富田 未発表）、このことを支持している。さらに、後述のように光受容体において、カロテノイドが光源の方向性を決定するために利用されるとともに、その代謝物であるレチナールが視覚に利用されるようになったと考えられる。

単細胞動物から多細胞動物へ進化する過程では、細胞の分化誘導や発達の制御能の獲得が重要であるが、そこでもカロテノイドの代謝物レチノイン酸が重要な役割を果たすようになったと考えられる。動物はカロテノイドを合成できないが、コレステロールやステロイドを生合成するために、イソペンテニルピロリン酸（IPP）から、ファルネシルピロリン酸（FPP）、あるいはゲラニルゲラニルピロリン酸（GGPP）まで合成できる。しかし、フィトエン［44］を合成する酵素が欠けているためカロテノイドを合成できないと考えられる（図4-4参照）。実際、細菌パントエアのフィトエン合成酵素の遺伝子（*crtB*）をマウス由来の細胞株の培養細胞に組み込んだところ、フ

ィトエンが産生された（Satomi *et al.* 1995）。IPP から合成されるテルペノイド（幼若ホルモン、発がんプロモーターであるホルボールなど）、コレステロール、ステロイドホルモンなどは生理活性をもっている。海綿動物、腔腸動物、環形動物、棘皮動物のような原始的な無脊椎動物では、おもにテルペノイドやステロイドが抗菌、抗微生物因子として生体防御に機能している。したがって、動物もかつてはカロテノイドを合成していたが、植物性食物の摂取によってカロテノイドを得ることができたためカロテノイド合成酵素を必要としなくなった可能性もある。概して脊椎動物より無脊椎動物、哺乳類より魚類にカロテノイド代謝能力が認められる（**3-2** 節参照）。

3-1-2　プロビタミン A 作用

動物体内でビタミン A（レチノール）に変換されるカロテノイドは、プロビタミン A と総称される。少なくとも 1 個の非置換 β 末端基と炭素数 11 個以上のポリエン鎖をもつカロテノイド約 60 種類が該当する（表 1-1 参照）。哺乳動物においては、β-カロテン［3］から代謝される経路（図 3-1）は良く知られているが、他のプロビタミン A の代謝に関する研究は少ない。

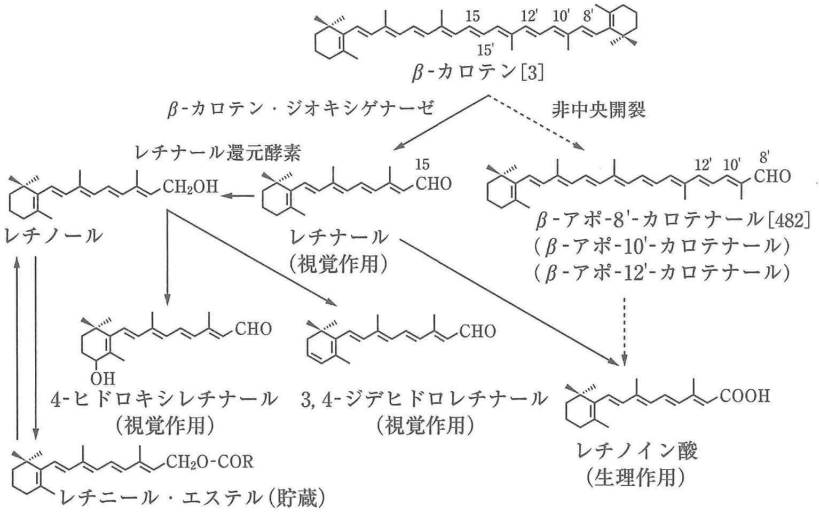


図 3-1　β-カロテンからアポカロテノイドとレチナール類の生成
動物により生成する物質は異なる。

4. 生合成経路とその遺伝子

カロテノイドの生合成経路の解明には、まずカロテノイドの化学構造の同定が必要であり（5章参照）、次いで酵素学的な方法、遺伝学的な方法、さらには逆遺伝学的な方法による解明へと進む。近年の分子生物学の進展に伴って、遺伝学的な方法が解析の主流になっている。この章では、こうした知見に基づいて、現在までに明らかになったカロテノイド生合成経路とその遺伝子について解説する。

カロテノイドを合成する光合成細菌、シアノバクテリア、細菌、菌類、藻類、陸上植物から生合成遺伝子が続々と単離され、酵素の性質も研究されている。その中で、カロテノイド生合成に必要なすべての遺伝子が単離されてDNA塩基配列が決定され、また各酵素の機能が解明され、生合成経路が確定したのは、光合成細菌ロドバクター・カプスラタス（Armstrong *et al*. 1989）、ロドバクター・スフェロイデス（Lang *et al*. 1995）、土壌細菌パントエア・アナナチス（旧名：エルビニア・ウレドボラ。Misawa *et al*. 1990）、パントエア・ステワルチ（旧名：エルビニア・ヘルビコラ。Hundle *et al*. 1994）、細菌パラコッカスN81106（旧名：アグロバクテリウム・オウランティアカム。Misawa *et al*. 1995）、パラコッカス・ゼアキサンチニフィエンス（旧名：フラボバクテリウムR1534。Pasamontes *et al*. 1997）、ストレプトミセス・グリセウス（Krugel *et al*. 1999）、ブレビバクテリウム・リネンス（Krubasik & Sandmann 2000a）などである。好気性光合成細菌ブラディリゾビウムORS278は、主成分であるカンタキサンチン［380］とスピリロキサンチン［166］の二組の生合成経路をもっている（Hannibal *et al*. 2000；Giraud *et al*. 2004）。上記の細菌では、カロテノイド生合成遺伝子は一つのクラスターを形成している。一方、クラスターを形成していない細菌もいて、一部の遺伝子しか単離されていない。シアノバクテリア、菌類、藻類、陸上植物では、カロテノイド生合成遺伝子はクラスターを形成してなく（Sandmann 1994，2001；Armstrong 1994，1997；Ausich 1994；Hirschberg & Chamovitz 1994；Hirschberg 1998）、すべてのカロテノイ

ド生合成遺伝子が明らかになった種もない。

動物はカロテノイドを合成できないが、食餌を通して取り入れたカロテノイドを代謝（酸化、還元、分解など）することができる。また、β-カロテン［3］を視物質であるレチナールに分解する酵素β-カロテン-15,15′-ジオキシゲナーゼの遺伝子が最近同定された（**3-2-4** 節参照。von Lintig & Wyss 2001）。

生合成遺伝子が単離されその酵素機能が確定したものと、それを単離したおもな生物を表 4-1 にまとめた。酵素名や遺伝子名とそれらの略称は、単離した生物や論文により付け方が異なる場合がある。たとえば、フィトエン合成酵素（phytoene synthase）の遺伝子に対して *crtB*、*pys*、*psy* の 3 種類の名称がある。ただし、原核生物については *crt* を使うことが提案された（Hirshberg & Chamovitz 1994）。また、最初の論文で付けられた酵素名が、正確に反応を示していない例もある（たとえば、*crtC*、*crtD*）。本書では、遺伝子名は小文字で始まるイタリック体（例：*crtB*）で記し、その産物であるタンパク質は大文字で始まる立体（例：CrtB）で記した。

大腸菌などカロテノイド非生産生物に、カロテノイド生合成遺伝子を組み合わせて導入・発現させて、カロテノイドを合成するように改変することができる。生合成遺伝子の検索、酵素の性質の研究、新規カロテノイドの生産の研究などにも使われている。

4-1　生合成の初期段階

4-1-1　イソプレン生合成：メバロン酸経路と非メバロン酸経路

カロテノイドは、炭素数 5（C_5）のイソプレンが 8 個重合したものである。単位構造であるイソペンテニルピロリン酸（IPP）の生合成は、メバロン酸経路のみによると広く信じられていた。しかし、1990 年代に、この経路とは異なる非メバロン酸経路が大腸菌で発見され、広い範囲の生物に分布し、真核生物では細胞内で使い分けをしていることが判明した。

メバロン酸経路（mevalonate pathway）では、図 4-1 に示すように、出発物質のアセチル CoA が 3 分子重合して 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル CoA が合成され、NADPH により還元されてメバロン酸が合成され、

表 4-1 機能的に確認された生合成酵素、遺伝子と主な生物

酵素名	遺伝子名	分類	おもな生物
ゲラニルゲラニルピロリン酸合成酵素 (EC 2.5.1.29)	*crtE*	紅色細菌	ロドバクター・カプスラタス、ブラディリゾビウム ORS278
	crtE	シアノバクテリア	サーモシネココッカス・エロンガタス
	crtE	細菌	パントエア・アナナチス、ストレプトミセス・グリセウス
	carG, *ggps*	菌類	ムコー・シルシネロイデス
	crtE, *ggps*	植物	赤ピーマン、シロイヌナズナ
フィトエン合成酵素 (EC 2.5.1.32)	*crtB*	紅色細菌	ロドバクター・カプスラタス、ルブリビバックス・ゲラチノサス
	crtB	緑色硫黄細菌	クロロビウム・テピダム
	crtB, *pys*	シアノバクテリア	シネコシステス PCC 6803、シネココッカス PCC 7942
	crtB	細菌	パントエア・アナナチス、ストレプトミセス・グリセウス
	crtB, *pys*, *psy*	植物	トマト、スイセン、赤ピーマン、シロイヌナズナ
フィトエン合成酵素 (リコペン・シクラーゼと結合)	*carRA*, *crtYB*	菌類	ムコー・シルシネロイデス、キサントフィロミセス・デンドロロアス
ジアポフィトエン合成酵素 (デヒドロスクアレン合成酵素)	*crtM*	細菌	スタフィロコッカス・オウレウス
フィトエン不飽和化酵素 (細菌型)	*crtI*	紅色細菌	ロドバクター・カプスラタス、ルブリビバックス・ゲラチノサス
	crtI	シアノバクテリア	グロエオバクター・ビオラセウス
	crtI	細菌	パントエア・アナナチス、ストレプトミセス・グリセウス
	crtI, *al-1*, *carB*	菌類	ニューロスポラ・クラサ、ムコー・シルシネロイデス
ジアポフィトエン不飽和化酵素 (デヒドロスクアレン不飽和化酵素)	*crtN*	ヘリオバクテリア	ヘリオバシルス・モビリス (相同性)
	crtN	細菌	スタフィロコッカス・オウレウス
フィトエン不飽和化酵素 (植物型)	*crtP*	緑色硫黄細菌	クロロビウム・テピダム
	crtP, *pds*	シアノバクテリア	シネコシステス PCC 6803、シネココッカス PCC 7942
	pds	植物	トマト、シロイヌナズナ、赤ピーマン、スイセン
ζ-カロテン不飽和化酵素	*crtQ*	緑色硫黄細菌	クロロビウム・テピダム
	crtQ, *zds*	シアノバクテリア	シネコシステス PCC 6803、アナベナ PCC 7120
	zds	植物	赤ピーマン、シロイヌナズナ、ヒマワリ
シス・カロテン異性化酵素	*crtH*	緑色硫黄細菌	クロロビウム・テピダム
	crtH	シアノバクテリア	シネコシステス PCC 6803
	crtISO	植物	シロイヌナズナ、トマト

5. 分離・分析方法

カロテノイドの分離精製は、分離用機材や方法の進歩に伴い容易に行えるようになったが、抽出や精製の基本的な実験操作は変わっていない。一方、各種の機器分析技術の急速な進歩、分析データの蓄積に伴い、カロテノイドの同定が容易になってきた。新しいカロテノイドでも、1 mg 以下の標品で化学構造を決定できるようになった。

ただし、カロテノイドは、光あるいは温度による異性化、酸素による酸化、重合、分解などを受けやすく、また酸あるいはアルカリにより構造変化を起こすこともあるので、その取り扱いには注意が必要である。たとえば、できるだけ弱光のところで実験を行う、試料は低温で保存する、また窒素置換後、密栓をして酸素に触れないようにする、などである。さらに、有機溶媒は人の健康に害を及ぼすので、ドラフトなどの換気施設の中で操作しなければならない。

5-1 抽出・精製方法

ここでは、一般的な抽出・精製方法について述べるが、方法は生物材料によって異なるため、個々の事例の詳細に関しては“Methods in Enzymology, Vol. 213”(1992)、“Carotenoids, Vol. 1 A”(1995) などを参照されたい。また、参考資料として、光合成細菌、緑色植物の葉、動物組織からカロテノイドを抽出・精製・同定した具体例を **5-10** 節に示した。

5-1-1 抽出方法

新鮮な生物材料を使うことが望ましいが、材料を保存する場合はできるだけ低温（たとえば、−80 °C のディープフリーザーなど）で保存する方がよい。また、抽出後は異性化や分解を受けやすくなるので、生物材料のまま保存する方がよい。

生物材料は水分を含んでいるので、抽出には水と混ざる有機溶媒を用い

る。一般には、メタノール、アセトン、アセトン／メタノール混液（7：2）、クロロホルム／メタノール混液（1：2）などがよく用いられ、色がなくなるまで抽出を数回繰り返す。抽出液の遠心分離は、細胞の遠心分離より少なめの回転数と時間でよい。凍結乾燥した材料の場合は、より極性の低い有機溶媒を用いることができ、また抽出しやすいことがある。一方で、細胞壁成分が固化して、有機溶媒が浸透しにくくなることもあり、このときは湿った状態に戻すと抽出しやすくなることがある。有機溶媒中で超音波あるいは乳鉢などによる破砕をすると、抽出の効率が上がる。抽出溶媒の体積を増やし、抽出回数を多くすると、抽出の効率は上がるが、その反面、抽出液の体積が多くなり、その後の処理がしにくくなる。生物材料によっては、有機酸などの酸性物質、あるいは塩基性物質を多量に含み、また抽出用クロロホルムは塩酸を含むことがあるので、濃い緩衝液を少量入れて pH 変化を防ぐとよい（具体例は **5-10-4** 節参照）。また、クロロホルムなどハロゲン化物は、他の有機溶媒よりも人体に対する毒性が高いので、使用に際しては換気に注意し、できれば他の有機溶媒に置き換えた方がよい。

抽出液に多量の水分が含まれる場合は、抽出液にヘキサン、次いで水を加えて、ヘキサン層と含水有機溶媒層に分離させると、カロテンおよび低極性キサントフィルはヘキサン層に含まれ、体積の減少、水分と夾雑物の除去をすることができる。乳化を防ぐには、塩化ナトリウムを加えるとよい。あるいは、抽出液にクロロホルムを加えさらに水を加えて、クロロホルム層と水層に分離させる Bligh-Dyer 法（Bligh & Dyer 1959）を用いると、カロテノイドはクロロホルム層に含まれる。水分が少ないときは、直接ロータリーエバポレーターで溶媒を除去する。エタノールを加えて、水とエタノールの共沸を利用すると、水分を除去しやすい。無水炭酸ナトリウムあるいは無水リン酸ジナトリウムを加えて脱水する方法もあるが、吸水に一晩程度の時間がかかる。

有機溶媒での抽出により、カロテノイドばかりでなく、中性脂質、リン脂質、糖脂質、キノン、膜タンパク質、クロロフィルなど脂溶性物質も抽出されてくる。脂質が混在する場合は、ケン化（アルカリ分解）により除くことができる。抽出物をエタノールあるいはジエチルエーテルに溶かし、60％（w/v）水酸化カリウム水溶液を 1/10 容入れ、気相を窒素置換し、暗所、室

温で4〜6時間あるいは60 °Cで20分放置する。その後、等量のジエチルエーテルあるいはヘキサン、次いで塩化ナトリウム水溶液を入れると、二層に分離する。カロテノイドは有機溶媒層に残るが、脂質はグリセリンと脂肪酸塩に、クロロフィルはクロロフィリドとフィトールに加水分解されて、水層に移動する。ただし、海産動物や花弁などにはカロテノイド脂肪酸エステル、ある種の細菌にはカロテノイド配糖体脂肪酸エステルの存在が報告されており（表1-2参照）、これらのカロテノイド誘導体はケン化により脂肪酸を失うので注意が必要である。また、フコキサンチン［369］などのアセチル基も外れてしまう。アスタキサンチン［406］のアスタシン［398］への変化、アセトンとのアルドール縮合反応も起きるので、注意が必要である。

5-1-2　精製方法

精製はいくつかの方法を組み合せて行う。

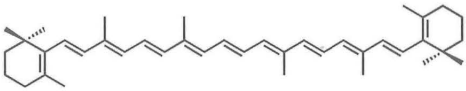
抽出物を有機溶媒と水へ分配することや、乾固後、有機溶媒で再抽出することにより、一部の夾雑物を除去できる。次に、各種クロマトグラフィーの組合せで単離精製をする。このとき、順相系と逆相系の両方を用いた方がよい。粗抽出液中のカロテノイドは、脂質など夾雑物の影響で、精製されたカロテノイドとクロマトグラフィーでの挙動が異なることがある。また、一般にカロテノイドは精製が進むほど不安定になり、異性化や分解などが起こりやすくなるので注意を要する。

5-2　同定方法

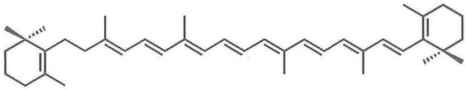
一般的にカロテノイドを同定するには、①既知カロテノイドとTLC（薄層クロマトグラフィー）移動度あるいはHPLC（高速液体クロマトグラフィー）溶出時間の一致、②吸収スペクトルの一致、③質量数の決定、の3点が最低限必要である（Liaaen-Jensen 1995）。カロテノイドによってはこれだけで同定できる場合と、不可能な場合がある。たとえば、ゼアキサンチン［119］とイソゼアキサンチン［129］は区別できない。ただし、近縁生物のもつカロテノイドとの比較、生合成経路なども考慮すると、可能性が絞られてくることもある。

カロテノイド番号　　日本語慣用名 ／ 英語慣用名 ／ IUPAC-IUB名称
構造式

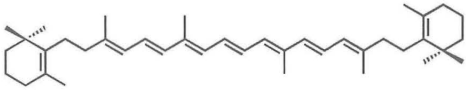
3　　β-カロテン ／ β-carotene ／ β,β-carotene



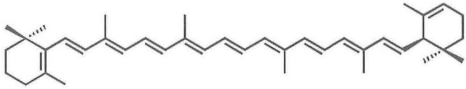
3.1　　7,8-ジヒドロ-β-カロテン ／ 7,8-dihydro-β-carotene ／
7,8-dihydro-β,β-carotene



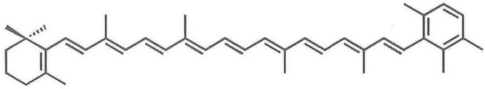
4　　テトラヒドロ-β-カロテン、η-カロテン ／ tetrahydro-β-carotene、
η-carotene ／ 7,8,7′,8′-tetrahydro-β,β-carotene



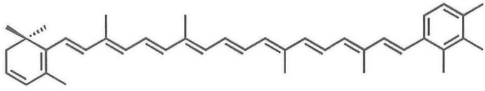
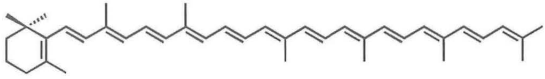
7　　α-カロテン ／ α-carotene ／ (6′R)-β,ε-carotene



9　　β-イソレニエラテン ／ β-isorenieratene ／ β,φ-carotene



10　　テチアテン ／ tethyatene ／ 3,4-didehydro-β,χ-carotene



11　　トルレン ／ torulene ／ 3′,4′-didehydro-β,ψ-carotene