

## 光合成系の人為操作及び光反応制御

橋本 秀樹

大阪市立大学大学院理学研究科数物系専攻

### 1. 研究の背景とねらい

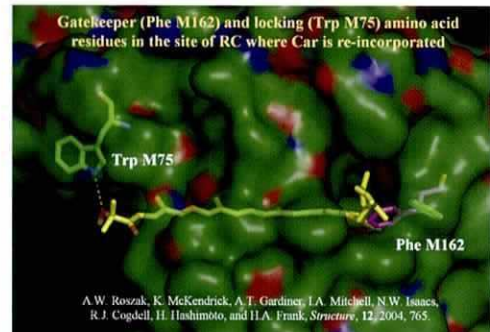
植物の光合成反応は、地球上に降り注ぐ太陽光エネルギーを有効利用している、現存する最高の光エネルギー変換機構である。光合成反応に寄与する色素タンパク超分子複合体の構造が原子スケールで明らかにされたこと、および超高速レーザー分光計測技術の進歩により、生命が38億年の進化の過程において獲得したバイオナノマシンの全容が解明されつつある。人類は光合成反応そのものを、より有用な形に制御できる段階に突入した。本研究では、光合成系を構築する機能性色素・タンパク質を人為的に改変し再構築すること、および極超短パルス光の位相制御(チャープ制御)を行うことにより「生命の青写真(自然の巧妙さ)」を能動的に探索することを目的とする。

### 2. 主な研究成果の概要

#### 2.1 アナログカロテノイドを再構築した光反応中心複合体の単結晶X線構造解析

光合成色素カロテノイドの光励起状態の準位エネルギーは、共役二重結合の数により変化する。エネルギー伝達や電子伝達などの光機能の詳細を解明するためには、カロテノイドの共役二重結合数と光機能との関係について系統的に調査することが必要である。このことを実現するためのもっとも確実な方法は、①天然カロテノイドと同一の炭化水素骨格を有するが、共役二重結合数が異なる一連のアナログ体を合成し、②生化学的手法を用いることによりアポ蛋白質に再構築を行い、③光機能の差異について系統的に調査することである。

光合成細菌 *Rb. sphaeroides* のカロテノイド欠損突然変異株、R26.1 ミュータントから調製した光反応中心複合体(RC)に有機合成により調製したアナログカロテノイドを再構築した、人工の光反応中心複合体を創成し、単結晶成長とそれに続く X 線結晶構造解析を行った。カロテノイド周辺の電子密度分布に焦点をあてた場合(右挿入図参照)、人工 RC の場合においても天然と同様にアナログカロテノイドが 15 シス構造を取って RC に結合すること、カロテノイドの有無でアミノ酸残基(フェニルアラニン M162)の位置がフリップすること、及びカロテノイドに存在するメトキシ基とアミノ酸残基(トリプトファン M75)とが水素結合していることが明らかになった。カロテノイドを RC に再構築するには、一定の方向性が存在し、フェニルアラニン M162 は門番としての、トリプトファン M75 は鍵としての役割を果たしていることが明らかになった。



#### 2.2 光合成色素蛋白複合体の電場変調吸収分光

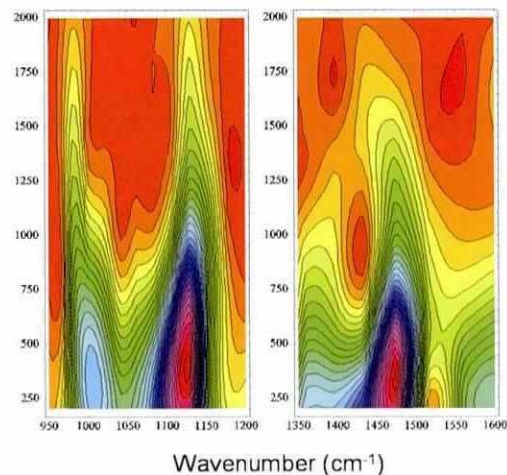
光合成色素と周囲のアポ蛋白質との静電的相互作用(タンパク質の運動に起因する動的な効果)を検出する有効な研究手段として、二位相ロックインアンプを用いた計測方法が有効であることを提案し、解析方法の構築と、実際に光合成細菌 *Rb. sphaeroides* G1C の LH2 アンテナ色素タンパク複合体を用いた測定による新解析方法の有効性を検証した。LH2 複合体に結合した B850 バクテリオクロロフィル二量体の吸収バンドに注目し、位相遅れ成分( $\pi/2$  成分)の温度依存性、及び周波数依存性を測定することにより、色素とアポタンパク質との動的な静電相互作用の検出に成功した。

カロテノイド欠損光合成細菌 *Rb. sphaeroides* R-26.1 から調製した光反応中心複合体(RC)と、系外から有機合成により調製したアナログカロテノイドを再構築した人工の RC の電場変調吸収分光測定(室温及び低温)を行い、カロテノイド分子の有無により周囲に存在するバクテリオクロロフィル分子周辺の静電環境にどのような差異が生じるのかを初めて定量化した。室温(生理温度)で測定した場合、カロテノイド分子から 16 Å 離れて存在するスペシャルペアバクテリオクロロフィル分子の周辺の静電場に、カロテノイド分子の有無により 10% 程度の差異が生じることを明らかにした。

### 2.3 光合成色素カロテノイドおよびアンテナ色素蛋白複合体のサブ20フェムト秒時間分解吸収分光

カロテノイドのアンテナ色素としての機能発現に関して、20 フェムト秒を切る超高速レーザー一分光を適用することにより、従来から知られている一光子許容な  ${}^1B_u$  状態 ( $S_2$  状態) と禁制な  $2^1A_g$  状態 ( $S_1$  状態) の2つの一重項励起状態の間に別の一重項励起状態 ( $S_x$  状態) が存在し、励起状態の緩和に関与することを実時間で明らかにした。この研究の発展として、一連の共役鎖長を持つβ-カロテンホモログ体および光合成細菌より単離精製したカロテノイド分子について同測定を行い。最短の共役二重結合数  $N=5$  を持つ場合を除き、全ての化合物において、 $S_2$  励起状態から  $S_1$  励起状態への緩和過程において  $S_x$  中間励起状態が存在することを実時間で観測した。さらに、β-カロテンの場合に観測された  $S_x$  状態の素性として、二光子励起により生成したコヒーレント過渡状態であることを示唆する実験および解析を行った。

溶液中のフリーなカロテノイド分子および LH2 アンテナ色素蛋白複合体に結合したカロテノイドのサブ 20 フェムト秒時間分解吸収分光測定を行い、Simulated Impulsive Raman 過程により生成するコヒーレント振動の観測に初めて成功した。さらに、得られた時間領域信号に対して、十分な時間分解能と周波数分解能を合わせ持つ Wavelet 解析を適用することにより、コヒーレント振動の時間変化(右挿入図参照)を同定することに成功した。



カロテノイド分子のコヒーレント過渡振動の時間変化を示す等高線図

### 3. 謝辞

本研究プロジェクトを成功へと導くためには、佐島 徳武 博士(現、北海道大学水産学研究科助教授)と陳 岐岱博士(平成 18 年 4 月より中国吉林大学助教授就任予定)の2名の博士研究員の方々の献身的な協力が必要不可欠であった。この場を借りて彼らの貢献に深謝する。

### 4. 主な発表論文

- (1) G. Cerullo, D. Polli, G. Lanzani, S. De Silvestri, **H. Hashimoto**, and R.J. Cogdell, *Science* **298** (2002) 2395-2398. "Photosynthetic Light Harvesting by Carotenoids: Detection of an Intermediate Excited State"
- (2) A.W. Roszak, K. McKendrick, A.T. Gardiner, I.A. Mitchell, N.W. Isaacs, R.J. Cogdell, **H. Hashimoto**, and H.A. Frank, *Structure* **12** (2004) 765-773. "Protein Regulation of Carotenoid Binding: Gatekeeper and Locking Amino Acid Residues in Reaction Centers of *Rhodobacter sphaeroides*"
- (3) D. Polli, G. Cerullo, G. Lanzani, S. De Silvestri, K. Yanagi, **H. Hashimoto**, and R.J. Cogdell, *Phys. Rev. Lett.* **93** (2004) 163002/1-163002/4. "Conjugation Length Dependence of Internal Conversion in Carotenoids: Role of the Intermediate State"
- (4) K. Yanagi, **H. Hashimoto**, A.T. Gardiner, and R.J. Cogdell, *J. Phys. Chem. B* **108** (2004) 10334-10339. "Stark spectroscopy on the LH2 complex from *Rhodobacter sphaeroides* G1C; frequency and temperature dependence"
- (5) D. Kozumi, M. Komukai, **H. Hashimoto**, and M. Yoshizawa, *Phys. Rev. Lett.* **95** (2005) 213601/1-213601/4. "Ultrafast Dynamics of All-*trans*-β-Carotene Explored by Resonant and Nonresonant Photoexcitations"

他、計 52 件

### 5. その他

平成 15 年度中谷電子計測技術振興財団研究助成賞  
新聞報道 5 件