

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07026

研究課題名(和文) ホモダイマー型光合成反応中心の分子構築と反応制御機構の解明

研究課題名(英文) The mechanisms to control electron transfer reactions in the homodimeric photosynthetic reaction center based on its molecular structure

研究代表者

大岡 宏造 (Oh-oka, Hirozo)

大阪大学・理学研究科・准教授

研究者番号：30201966

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：好熱性ヘリオバクテリア *Hbt. Modesticaldum* 由来の反応中心(RC)標品の結晶化を試みた。空間群R32の結晶が得られ、現在、構造解析を進めている。この結晶は、昨年(2017年)、米国グループが報告したX線結晶構造解析の空間群(C2)とは異なる。米国グループの構造中にはキノン分子(A1)が存在しなかったが、我々の構造中にはキノン分子が存在していた。また、本来のP800+MQ-に由来するESP信号をsimulationによりできるだけ正確に求めた。PSI反応中心のキノンA1の配向と似ているものの、わずかに異なった場所に結合していることが示唆され、構造解析の結果と矛盾しなかった。

研究成果の概要(英文)：Light-dependent charge separation in photosynthesis is driven by the reaction center (RC) membrane protein complex that is classified into four types; the green bacterial or heliobacterial, the purple bacterial, the photosystem (PS) I and II RCs. Compared to the latter three types of RCs, the molecular architecture of heliobacterial RC is still poorly understood, in part due to the lack of high-resolution structural information. Structure of the RC from *Heliobacterium modesticaldum* has been solved to a resolution of 3.2 angstrom. Although the X-ray structure, which was reported by Arizona group in 2017, contained no quinone molecule within its, our crystal structure has indicated that it was contained and seemed to function as a secondary acceptor A1. The ESP-EPR signals, which was derived from the charge separated state of P800+A1-, suggested that the quinone molecule had an almost similar orientation to but a little bit different location from that in PS I.

研究分野：生物物理

キーワード：光合成 反応中心 ホモダイマー ヘリオバクテリア 光化学系 I 電子スピン共鳴 X線結晶構造解析

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

光合成反応中心は末端電子受容体の種類により、PS II タイプと PS I タイプに分類される。高等植物やシアノバクテリアではこれら両タイプ(それぞれ PS II および PS I に相当する)が連結した反応経路を構成するが、非酸素発生型の光合成細菌はどちらか一方のみをもつ。紅色細菌は PS II タイプのみ、緑色イオウ細菌、ヘリオバクテリアは PS I タイプのみである。反応中心内のエネルギー移動および電子移動反応は、これまで様々な物理化学的・分光学的手法を用いて解析されている。特に X 線結晶構造解析による立体構造の解明は、両タイプの反応中心には共通の分子基盤が存在することを示唆している。しかしながら緑色イオウ細菌、ヘリオバクテリアの反応中心は酸素に対して不安定であるために標品調製が難しく、構造解析には至っていない。報告されている分光学的知見は断片的で、今後の研究の進展が大いに期待されている。標品の性質を熟知し、安定的に取り扱えるのは国内外では申請者の関連するグループみである。

今日まで紅色細菌の反応中心、植物型の PS II および PS I 反応中心の詳細な立体構造が報告されてきた。これら反応中心コアタンパクはすべてヘテロダイマーであり、2方向の電子移動経路のうち一方のみが優先的に使われている(PS I では左右の電子移動の比率が異なる)。電子移動の方向と比率を制御する機構については実験・理論の両面から議論されてきたが、ヘテロダイマーであるがゆえに様々な因子が複雑に絡み合い、統一的理解は得られていない。キノン(A<sub>1</sub>)結合領域周辺の環境が、2方向の電子移動の比率を制御するとの報告もある。一方、緑色イオウ細菌、ヘリオバクテリアの PS I タイプ反応中心はホモダイマー型であり、2方向の電子移動経路は等価であることが期待されている。電子移動機構の解析に適した優れたモデル実験系であるにも関わらず、標品調製の困難さから研究材料として有効に生かされてこなかった。申請者はホモダイマー型反応中心を人工的にヘテロダイマーに改変する実験系を約 10 年の歳月をかけて確立し、現在、2方向の電子移動を制御する因子の解析に取りかかっている。そしてまさにこのような時期に、ヘリオバクテリア反応中心の単結晶が得られ(未発表)、原子レベルでの構造解析も推し進めようとしている。光合成反応中心の反応制御機構を、構造機能相関に基づいて総合的に理解できる機会がいよいよ到来した。

### 2. 研究の目的

本研究では好熱性緑色イオウ細菌である *Cba. tepidum*、および好熱性ヘリオバクテリアである *Hbt. modesticaldum* から調製され

た安定な反応中心標品を用い、これまでの研究成果を飛躍的に発展させていく。具体的には PS I との構造機能相関に基づいて、緑色イオウ細菌 *Cba. tepidum* 反応中心に部位特異的変異導入による摂動を加え、電子移動機構だけではなく、エネルギー移動機構の制御因子も明らかにしていく。この際、変異体タンパクの収量を向上させる必要があり、膜の可溶化方法を改良する。これと並行し、電子伝達成分間の距離や配向、キノンの反応特性など、生化学的、分光学的解析により両反応中心の諸性質の詳細を明らかにしていく。さらにヘリオバクテリア反応中心の X 線結晶構造解析に取り組む。位相決定のために反応中心タンパクのセレノメチオニン化を試みる。また変異導入のために遺伝子操作法の開発も行う。

### 3. 研究の方法

好熱性緑色イオウ細菌(*Cba. tepidum*)の *recA* 遺伝子領域に第 2 のコアタンパク遺伝子(*pscA mutant: pscA'*)を挿入し、反応中心を人工的にヘテロダイマー化(A/A')した。本研究では A' に部位特異的変異を導入し、電子移動やエネルギー移動を制御する機構を分子レベルで解明していく。またヘリオバクテリア反応中心の X 線結晶構造解析と、変異導入のための遺伝子操作法の開発に取り組む。両反応中心はホモダイマー型であり、反応制御機構は基本的に同じと考えてよい。それぞれの反応中心の特徴と利点を生かして生化学的、分光学的解析を推し進めていく。

#### (1) ヘテロダイマー反応中心(A/A')の収量向上に向けて可溶化方法の改良

*pscA*, *pscA'* に異なる精製用タグ(His-tag と Strept-tag)を付加し、タンデム・アフィニティー精製により His-PscA/Strept-PscA' 型(A/A'型)を分取した(未発表)。しかし膜からの可溶化効率が低いため、発現量の低い A/A' 型を十分量準備するのは難しい。イオン強度を上げて膜の可溶化を繰り返すなどの改良により、可溶化効率が大幅に改善されることを確認している。

#### (2) 部位特異的変異による反応機構解析

2方向の電子移動を制御する因子を解析する。まず二次電子受容体(A<sub>1</sub>)であるキノン分子周辺の分子環境に着目する。PS I では疎水的(W697)なポケットにキノン分子が  $\pi$ - $\pi$  結合で強く結合しているが、緑色硫黄細菌やヘリオバクテリアでは極めて親水的(R638)であると推測されている。この領域の改変により、2方向の電子移動の割合が変化することが期待される。野生型および変異型反応中心の過渡吸収測定と時間分解 ESR 測定による速度論的な解析を行う。反応場の分子環境変化と構造的歪みにより、反応時定数が 1 相性(対称な電子移動)から 2 相性(非対称な電子移動)へと変化することが期待される。

### (3) ヘリオバクテリア反応中心のX線結晶構造解析と変異導入法の開発

立体構造解析のための位相決定

現在、3.3 Å 分解能の回折強度データが得られている(未発表)。分子置換法では位相が決定しなかったため、PS Iの構造とは大きく異なる部位の存在が期待される。重原子置換や、反応中心タンパクのセレノメチオン化による位相決定を試みる。

変異導入のための遺伝子操作法の開発

ヘリオバクテリアは非光合成的に生育し、反応中心へのいかなる変異も致命的とはならないため、変異導入による反応機構解析に適している。homologous recombinationによるゲノム遺伝子への変異導入を試みる。

### (4) 電子伝達成分間の配向性と距離の算出

緑色硫黄細菌およびヘリオバクテリアから調製した配向膜標品を用いて、パルス ESR 分光法(スピンエコー)により、ラジカル間の配向性や距離を算出する。すでに反応中心内の一次電子供与体(P)と二次電子受容体(キノン:  $A_1$ )あるいは三次電子受容体( $F_X$ )との電荷分離状態に由来する分極信号を検出している。これにより  $P^+$  と  $A_1$ 、および  $P^+$  と  $F_X$  間の配向性と距離を求める。必要に応じてヘリオバクテリアの単結晶を用い、より高い精度のスペクトル解析を行う。

### (5) キノン ( $A_1$ ) 置換による電子移動反応の制御

PS I では、水飽和エーテル処理によりキノンを特異的に抽出後、人工キノンに置換することが可能である。同じ手法を用い、緑色硫黄細菌やヘリオバクテリア反応中心において、様々な性質の人工キノンへの入れ替えを試みる。すでにヘリオバクテリア反応中心から、特異的にキノンを抽出することに成功している。電子移動反応の時定数や割合の変化からキノン結合部位周辺の分子環境を考察する。得られる情報は、近々に解明される立体構造情報と補完し合う。

## 4. 研究成果

当初の研究計画である人工的ヘテロダイマーの収率向上に向けて努力したが、初年度において進捗状況が思わしくないと判断した。in vivo での発現量を大幅に上昇させるには発現コンストラクトを考え直す必要があり、プロモーター部や SD 配列等を見直すなどして有効な方策を検討中である。それゆえ本研究では目的を小幅変更し、エネルギー移動経路の解析、電子伝達成分 FA/FB の膜面に対する配向性、FA/FB タンパクおよび PetJ の大量発現系構築・再構成実験、そして反応中心の結晶構造解析、キノ  $A_1$  の配向性解析を進めることにした。以下に記載するように、「ホモダイマー型光合成反応中心の分子構築と反応制御機構の解明」に大きな進展があった。特に(5)と(7)の研究成果は特筆に値する。

### (1) 緑色イオウ細菌反応中心の励起エネルギー移動経路の解析

すでに PscA の H79, H164, H487 を Leu 残基に置換した部位特異的変異体を作成している。低温 77 K での時間分解蛍光スペクトル変化のデータは取得済なので、本年は低温吸収スペクトルを測定し、吸収バンドと蛍光バンドとの対応付けを行った。

### (2) ヘリオバクテリア反応中心の FA/FB クラスタの配向解析

FA/FB は末端電子受容体として機能し、低分子量タンパク質 PshB (5.6 kDa) の 2 個のシステインモチーフに配位している。今回、配向膜を用いて膜面に対する FA/FB の配向を ESR により調べた。g 値と膜の垂直軸にたいする角度は、FA に関しては  $g_z = 2.046$  (30°),  $g_y = 1.942$  (60°),  $g_x = 1.911$  (90°)、FB に関しては  $g_z = 2.063$  (60°),  $g_y = 1.942$  (60°), and  $g_x = 1.886$  (45°)であった。また酸化還元電位は、FBの方がFAよりも高いことが示唆された。このことはPS IのFA/FBの配向、機能とは真逆の対応付けであることを意味し、電子移動は  $FX \rightarrow FB \rightarrow FA$  の順番で生じることが示唆された。

### (3) ヘリオバクテリア光合成反応中心と PshB (FA/FB タンパク) の再構成実験

a) ヘリオバクテリア反応中心の FA/FB タンパク (PshB) の発現系構築

ホモダイマー型コアタンパク (PshA/PshA) との再構成実験を目指し、PshB タンパクの大腸菌での大量発現系を構築した。FeS タンパク質の発現効率を高めるために、isc オペロン、suf オペロンとの共発現を試みたところ、isc オペロンが有効であることが確認された。

b) Fd1/Fd2 との再構成実験

PshB タンパクの候補遺伝子である *fd1* および *fd2* の大量発現、精製を試みた。菌体破碎後の抽出液の硫酸分画、疎水クロマトグラフィーにより粗精製画分を得た。予備的実験として、これら 2 種類の粗精製フェレドキシンとコアタンパクとの再構成実験を行った。閃光照射による過渡吸収変化スペクトルを測定したところ、Fd1、Fd2 を用いた各再構成系において  $[F_A/F_B]$  と  $P800^+$  との電荷再結合に由来する成分 ( $t_{1/2} = 130$  ms) が観測された。このことは Fd1 もコアタンパクと結合することができ、in vivo では PshB サブユニットとして機能する可能性が示唆された。

c) Fd3 との再構成実験

PshB タンパクの候補遺伝子には *fd1*、*fd2* 以外に *fd3* がある。そこで *fd3* をクローニングし、大量発現・精製後、コアタンパクとの再構成実験を行い、Fd1、Fd2 と同様に電荷再結合に由来する成分を観察した。このことは Fd3 も PshB サブユニットとして機能する可能性を示唆する。さらにコアタンパクとの相互作用部位を架橋実験により特定

するために N 末端に His タグを付加させたコンストラクトも作成した。

#### (4) ヘリオバクテリア光合成反応中心と電子供与体 PetJ の再構成実験

PetJ はモノヘム型シトクロム *c* であり、反応中心 P800 への電子供与体として機能することが報告されている。大腸菌での *cmc* 遺伝子クラスターとの共発現系を用い、大量発現系を構築した。菌体破碎後の抽出液を、イオン交換クロマトグラフィーおよびゲル濾過クロマトグラフィーにより精製画分を得た。しかしながらコアタンパクとの再構成実験を行ったところ、電子伝達活性を確認することができなかった。PetJ の酸化還元電位が高電位側に变化したことが推測され、滴定実験等で確認する必要がある。

#### (5) 光誘導電子スピン分極信号 P800<sup>+</sup>MQ<sup>-</sup> のシミュレーション

時間分解 ESR で観察されるスピン分極信号は、前駆体ラジカルペアからの電子移動が遅い場合には前駆体ラジカルペアに由来するスピン分極からの影響を受ける。この影響の程度を考慮し、本来の P800<sup>+</sup>MQ<sup>-</sup> に由来するスピン分極信号を simulation により求めた。その結果、*J* 値は *D* 値とほぼ同じ大きさであるが、負の符号をもつことが分かった。光化学系 I 反応中心のキノン A<sub>1</sub> の配向と似ているものの、わずかに異なった場所に結合していることが示唆された。

#### (6) 時間分解 EPR によるヘリオバクテリア反応中心での初期ラジカル対生成

初期電化分離の機構を明らかにする目的で、閃光照射後の P800<sup>+</sup>A<sub>0</sub><sup>-</sup> ラジカルペアを ESR により観測した。

#### (7) ヘリオバクテリア反応中心の結晶化・構造解析

2014年度より回折実験可能な回折強度データが得られているが（未発表）、さらなる分解能向上を目指し、諸条件の再検討、および計算による精密化を行っている。

2017年、米国のグループがヘリオバクテリア反応中心の立体構造を報告したが、そこにはキノンは存在していなかった。解析中の我々のデータはキノンの存在を示唆しており、電子移動経路上の機能について疑問を投げかけるに至っている。

### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 6 件）

1. T. Kondo, M. Matsuoka, C. Azai, M. Kobayashi, S. Itoh, and H. Oh-oka (2018) Light-induced electron spin-polarized (ESP) EPR signal of the P800<sup>+</sup> menaquinone<sup>-</sup> radical pair state in oriented membranes of *Heliobacterium modesticaldum*: Role/location of menaquinone in the

homodimeric type I reaction center. *J. Phys. Chem. B* 122: 2536-2543. DOI:

10.1021/acs.jpcc.7b12171 (査読有)

2. H. Nagashima, H. Kishimoto, R. Mutoh, N. Terashima, H. Oh-oka, G. Kurisu and H. Mino

(2017) Hyperfine sublevel correlation spectroscopy studies of iron-sulfur cluster in Rieske protein from green sulfur

bacterium *Chlorobaculum tepidum*. *J. Phys. Chem. B* 121:2543-2553. DOI:

10.1021/acs.jpcc.6b12968 (査読有)

3. T. Noji, T. Suzuki, M. Kondo, T. Jin, K. Kawakami, T. Mizuno, H. Oh-oka, M. Ikeuchi,

M. Nango, Y. Amao, N. Kamiya and T. Dewa

(2016) Light-induced hydrogen production by photosystem I-Pt nanoparticle conjugates

immobilized in porous glass plate

nanopores. *Res. Chem.*

*Intermed.* 42:7731-7742. DOI:

10.1007/s11164-016-2658-9 (査読有)

4. T. Kondo, S. Itoh, M. Matsuoka, C. Azai and H. Oh-oka (2016) Orientations of Iron-Sulfur

Clusters F<sub>A</sub> and F<sub>B</sub> in the Homodimeric Type-I Photosynthetic Reaction Center of

*Heliobacterium modesticaldum*. *J. Phys. Chem. B* 120: 4204-4212. DOI:

10.1021/acs.jpcc.6b01112 (査読有)

5. C. Azai, Y. Sano, Y. Kato, T. Noguchi and H. Oh-oka (2016) Mutation-induced perturbation

of the special pair P840 in the homodimeric reaction center in green sulfur bacteria. *Sci. Rep.* DOI: 10.1038/srep19878 (査読有)

6. T. Kondo, S. Itoh, M. Matsuoka, C. Azai and H. Oh-oka (2015) Menaquinone as the secondary electron acceptor in the type I

homodimeric photosynthetic reaction center of *Heliobacterium modesticaldum*. *J. Phys. Chem. B* 119: 8480-8489. DOI:

10.1021/acs.jpcc.5b03723 (査読有)

〔学会発表〕（計 33 件）

1. T. Kondo, C. Azai, S. Itoh and H. Oh-oka, “Light-induced electron spin-polarized (ESP) EPR signal of the P800<sup>+</sup>MQ<sup>-</sup> radical pair state in oriented membranes of *Heliobacterium modesticaldum*”, 2018年3月28-30日、第59回日本植物生理学会年会、札幌コンベンションセンター（札幌市）

2. 岸本拓、武藤梨沙、田中秀明、栗栖嗣、大岡宏造、「緑色硫黄細菌における Rieske 蛋白質とシトクロムの構造機能相関」、2018年3月28-30日、第59回日本植物生理学会年会、札幌コンベンションセンター（札幌市）

3. 平野誠人、野地智康、川上恵典、神哲朗、近藤政晴、大岡宏造、神谷信夫、「cyt<sub>c</sub><sub>6</sub>/光化学系 I/白金ナノ粒子複合体による光誘起水素発生」、2018年3月28-30日、第59回日本植物生理学会年会、札幌コンベンションセンター（札幌市）

4. 小島 理沙、浅井 智広、伊藤 繁、大岡 宏造、「ヘリオバクテリア光合成反応中心のドナー側とアクセプター側における電子伝達反応の解析」、2017年9月19-21日、第55回日本生物物理学会年会、熊本大学・黒髪北地区(熊本市)

5. H. Mino, H. Tsukuno, R. Mutoh, H. Nagashima, Y. Kobori, G. Kurisu and H. Oh-oka, "Regulation of initial charge separation in photosynthetic reaction center detected by transient EPR", 2017年9月19-21日、第55回日本生物物理学会年会、熊本大学・黒髪北地区(熊本市)

6. H. Mino, H. Tsukuno, R. Mutoh, H. Nagashima, Y. Kobori, G. Kurisu and H. Oh-oka, "Initial charge separated spin-polarized radical pair in reaction center of *Heliobacterium modesticaldum*", 2017年9月19-21日、第55回日本生物物理学会年会、熊本大学・黒髪北地区(熊本市)

7. G. Kurisu, S. Itoh, H. Oh-oka "X-ray structure of the type-I reaction center from *Heliobacterium modesticaldum* at 3.2Å resolution", 2017年7月16-21日、Gordon Research Conference on Photosynthesis 2017, "Photosynthetic Plasticity: From the Environment to Synthetic Systems", Grand Summit Hotel at Sunday River, Nwery, ME, アメリカ合衆国

8. 岸本拓、武藤梨沙、田中秀明、栗栖嗣、大岡宏造、「緑色硫黄細菌における Rieske 可溶性ドメインと c 型シトクロムの構造機能相関」、2017年7月15-16日、第25回「光合成セミナー2017: 反応中心と色素系の多様性」、神戸大学・百年記念会館(兵庫県・神戸市)

9. 波佐間雄世、武藤梨沙、池田祐輔、大岡宏造、栗栖源嗣、寺内一姫、浅井智広、「緑色硫黄細菌における緑藻由来[FeFe]ヒドロゲナーゼの発現系構築」、2017年7月15-16日、第25回「光合成セミナー2017: 反応中心と色素系の多様性」、神戸大学・百年記念会館(兵庫県・神戸市)

10. 和田公樹、小島理沙、岸本拓、大岡宏造、「緑色硫黄光合成細菌の光合成反応中心サブユニット PscB の大量発現系構築」、2017年7月15-16日、第25回「光合成セミナー2017: 反応中心と色素系の多様性」、神戸大学・百年記念会館(兵庫県・神戸市)

11. 伏見こころ、仲庭哲津子、武藤梨沙、安田垂矢、安藤俊介、田中秀明、大岡宏造、栗栖源嗣、「ヘリオバクテリア由来 1 型光合成反応中心」、2017年7月15-16日、第25回「光合成セミナー2017: 反応中心と色素系の多様性」、神戸大学・百年記念会館(兵庫県・神戸市)

12. 小島理沙、浅井智広、伊藤繁、大岡宏造、「ヘリオバクテリア反応中心コアタンパクと Fd1/Fd2 の再構成実験」、2017年5月27-28日、第8回日本光合成学会年会お

よび公開シンポジウム、龍谷大学・瀬田キャンパス(滋賀県・瀬田市)

13. 佃野弘幸、武藤理沙、栗栖源嗣、大岡宏造、三野広幸、「ヘリオバクテリア反応中心における初期電荷分離ラジカル対の相互作用」、2017年5月27-28日、第8回日本光合成学会年会および公開シンポジウム、龍谷大学・瀬田キャンパス(滋賀県・瀬田市)

14. 岸本拓、武藤梨沙、田中秀明、栗栖源嗣、大岡宏造、「緑色硫黄細菌の Rieske タンパク質可溶性ドメインの構造と相互作用解析」、2017年5月27-28日、第8回日本光合成学会年会および公開シンポジウム、龍谷大学・瀬田キャンパス(滋賀県・瀬田市)

15. 波佐間雄世、武藤梨沙、池田祐輔、大岡宏造、栗栖源嗣、寺内一姫、浅井智広、「緑色硫黄細菌 *Chlorobaculum tepidum* の異種遺伝子発現系による、緑藻由来[FeFe]型ヒドロゲナーゼの高発現と水素生産」、2017年5月27-28日、第8回日本光合成学会年会および公開シンポジウム、龍谷大学・瀬田キャンパス(滋賀県・瀬田市)

16. 平野誠人、野地智康、川上恵典、神哲郎、吉野宏明、池内昌彦、近藤政晴、大岡宏造、神谷信夫、「多孔質ガラス板内部に導入された光化学系 I/白金ナノ粒子複合体による光誘起水素発生」、2017年5月27-28日、第8回日本光合成学会年会および公開シンポジウム、龍谷大学・瀬田キャンパス(滋賀県・瀬田市)

17. 小島理沙、浅井智広、伊藤繁、大岡宏造、「*Heliobacterium modesticaldum* の光合成反応中心コアタンパクと PshB タンパクの再構成実験」、2017年3月16-18日、第58回日本植物生理学会年会、鹿児島大学・郡元キャンパス(鹿児島市)

18. 池田祐輔、武藤梨沙、波佐間雄世、大岡宏造、栗栖源嗣、寺内一姫、浅井智広、「絶対嫌気性の光合成細菌 *Chlorobaculum tepidum* の異種遺伝子発現系を利用した緑藻[FeFe]型ヒドロゲナーゼの細胞内成熟化」、2017年3月16-18日、第58回日本植物生理学会年会、鹿児島大学・郡元キャンパス(鹿児島市)

19. 大岡宏造、小島理沙、浅井智広、武藤梨沙、栗栖源嗣、伊藤繁、「ヘリオバクテリア光合成反応中心の過渡吸収変化と低温蛍光解析」、2016年11月25-27日、第54回日本生物物理学会年会、つくば国際会議場(つくば市)

20. N. Terashima, H. Nagashima, H. Kishimoto, R. Mutoh, H. Oh-oka, G. Kurisu and H. Mino, "Magnetic structure of reduced [2Fe-2S] Rieske cluster from green sulfur bacteria *Chlorobaculum tepidum* studied by ESEEM", 2016年11月25-27日、第54回日本生物物理学会年会、つくば国際会議場(つくば市)

21. H. Tsukuno, R. Mutoh, G. Kurisu, H. Oh-oka and H. Mino, "Initial formation of the radical pair in reaction center complex of *Helio bacterium modesticaldum* detected by transient EPR", 2016年11月25-27日、第54回日本生物物理学会年会、つくば国際会議場(つくば市)

22. 長嶋宏樹、岸本拓、武藤梨沙、大岡宏造、栗栖源嗣、三野広幸、「*Chlorobaculum tepidum* 還元型 [2Fe-2S] Rieske cluster の磁気構造解析」、2016年11月10-12日、第55回電子スピンスイエンズ学会年会、大阪市立大学・杉本キャンパス(大阪市)

23. 佃野弘幸、武藤梨沙、栗栖源嗣、大岡宏造、三野広幸、「時間分解 EPR によるヘリオバクテリア反応中心での初期ラジカル対生成」、2016年11月10-12日、第55回電子スピンスイエンズ学会年会、大阪市立大学・杉本キャンパス(大阪市)

24. 小島理沙、浅井智広、武藤梨沙、栗栖源嗣、伊藤繁、大岡宏造「ヘリオバクテリア反応中心の低温蛍光と過渡吸収変化についての再考察」、2016年7月9-10日、第24回「光合成セミナー2016: 反応中心と色素系の多様性、龍谷大学・深草キャンパス(京都市)

25. 岸本拓、武藤梨沙、田中秀明、栗栖源嗣、大岡宏造「緑色硫黄細菌 *Chlorobaculum tepidum* がもつ Rieske タンパク質の可溶性ドメインの構造解析」、2016年7月9-10日、第24回「光合成セミナー2016: 反応中心と色素系の多様性、龍谷大学・深草キャンパス(京都市)

26. H. Kishimoto, R. Mutoh, H. Tanaka, G. Kurisu, H. Oh-oka "Structural analysis of the soluble domain of Rieske protein in the phototrophic green sulfur bacterium *Chlorobaculum tepidum*", 2016年7月1-2日、Satellite Meeting on Photosynthesis (The 17th International Conference on the Cell and Molecular Biology of Chlamydomonas), 京都大学・吉田キャンパス(京都市)

27. 大岡宏造、小島理沙、浅井智広、武藤梨沙、栗栖源嗣、伊藤繁「ヘリオバクテリア光合成反応中心のエネルギー移動経路に関する解析」、2016年5月27-28日、第7回日本光合成学会年会および公開シンポジウム、東京理科大学葛飾キャンパス(東京・葛飾区)

28. 大岡宏造、小島理沙、浅井智広、武藤梨沙、栗栖源嗣、伊藤繁「ヘリオバクテリア光合成反応中心の低温蛍光解析」第57回日本植物生理学会年会、2016年3月18-20日、岩手大学・上田キャンパス(岩手県・盛岡市)

29. H. Oh-oka "Homodimeric type 1 reaction centers in green sulfur bacteria and heliobacteria" IPR International Workshop, 2016年2月2-3日、大阪大学蛋白質研究所(大阪府・吹田市)

30. 大岡宏造、野地智康、浅井智広、武藤梨沙、栗栖源嗣、伊藤繁「多孔性シリカ粒子のナノ空間に埋め込まれたヘリオバクテリア反応中心コアタンパクの安定性と分光学的特性」第53回日本生物物理学会年会、2015年9月13-15日、金沢大学・角間キャンパス(石川県・金沢市)

31. H. Oh-oka, T. Yamamoto, R. Mutoh, C. Azai and G. Kurisu "A Rieske/cytochrome *b* complex in the green sulfur bacterium *Chlorobaculum tepidum*", 15th International Symposium on Phototrophic Prokaryotes, 2015年8月2-6日、Tübingen 大学 (Germany)

32. 大岡宏造、野地智康、浅井智広、武藤梨沙、栗栖源嗣、伊藤繁「多孔性シリカ粒子中のナノ空間に安定的に保持されたヘリオバクテリア反応中心」、2015年5月22-23日、第6回日本光合成学会年会および公開シンポジウム、岡山国際交流センター

33. 浅井智広、Kwang Kim、近藤徹、原田二郎、伊藤繁、大岡宏造「ホモダイマー光合成反応中心複合体の人工的ヘテロダイマー化」第62回日本生化学会近畿支部例会、2015年5月16日、立命館大学・びわこ・くさつキャンパス(滋賀県・草津)

〔図書〕(計 3 件)

1. 大岡宏造(2016年)「光と生命の事典」No. 30 光合成細菌」pp. 62-63、朝倉書店
2. 大岡宏造(2015年)「光合成のエネルギー変換」17章 ヘムと鉄硫黄クラスター」pp. 169-178、化学同人
3. 大岡宏造(2015年)「WEB版光合成事典(編集委員)、日本光合成学会

〔その他〕

ホームページ等

「光合成反応の分子機構」

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~ohoka/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大岡 宏造 (OH-OKA HIROZO)

大阪大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：30201966

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

伊藤 繁 (Itoh Shigeru)

栗栖 源嗣 (Kurisu Genji)

浅井 智広 (Azai Chihiro)