

平成22年 4月 30日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20750143

研究課題名 (和文) 色素自己集積型光合成アンテナ超分子の構造変化制御による機能解析

研究課題名 (英文) Analysis of light-harvesting supramolecular complexes of green photosynthetic bacteria by regulation of structural changes

研究代表者

佐賀 佳央 (SAGA YOSHITAKA)

近畿大学・理工学部・講師

研究者番号：60411576

研究成果の概要 (和文)：集光バクテリオクロフィル分子の自己組織化で光機能性部位が構築されている緑色光合成細菌の集光アンテナ超分子・クロロゾームを研究対象とし、緑色光合成細菌の生育環境の変化やクロロゾームへの摂動の印加によるクロロゾームの構成成分や超分子構造の変化を誘起・制御する方法論を開発するとともに、それらによって誘起されるスペクトル特性やエネルギー移動特性などの光合成アンテナ機能の変化を解析し、クロロゾームの光機能性部位の超分子構造と機能の相関を明らかにすることを旨とした研究を行った。また、クロロゾームのモデル超分子、およびクロロゾームの構成色素分子を対象とした研究もあわせて行った。緑色硫黄光合成細菌の生育環境の変化によって集光バクテリオクロフィル異性体組成の変化誘起に成功し、クロロゾーム機能への影響を解析した。また、クロロゾームモデル超分子に摂動を与えることで誘起させる分光特性変化を明らかにするとともに、集光バクテリオクロフィル分子の酸性条件での脱金属反応特性を解明した。

研究成果の概要 (英文)：Spectral properties and functions of major light-harvesting complexes, chlorosomes, of green photosynthetic bacteria were characterized by induction of changes of their components and supramolecular structures. Isomer composition changes of light-harvesting bacteriochlorophylls in cells of green sulfur photosynthetic bacteria were successfully performed by changes of cultivating conditions. Spectroscopic properties of chlorosomes that were isolated from these bacteria were analyzed. Spectral changes of pigment supramolecules mimicking chlorosomes by external stimuli were also examined. In addition, structure-dependent demetalation properties of light-harvesting bacteriochlorophylls of chlorosomes were unraveled under weakly acidic conditions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：生体機能関連化学

1. 研究開始当初の背景

光合成初期過程における集光アンテナ超分子の高効率光エネルギー捕集・伝達メカニズムの解明は生体機能関連化学の基礎分野のみならず、太陽光エネルギー変換の研究分野にも大きく寄与すると考えられる。近年の生体超分子の構造解析の進歩により多くの光合成関連超分子の立体構造が明らかになりつつあり、構造機能相関を理解することが重要な研究課題となっている。

緑色光合成細菌はクロロゾームと呼ばれる主要な集光アンテナ超分子を有している。クロロゾームにおいては脂質一分子膜で囲まれた中に、集光色素であるバクテリオクロロフィル *c*、*d*、*e* 分子（分子構造を図1に示す）が色素分子間相互作用による自己組織化によって光機能性部位を形成し、効率よく光エネルギーの捕集と伝達を行っている。他の光合成超分子とは異なり、クロロゾームの光機能性部位の形成にはタンパク質が関与していない点がユニークな特徴である。

クロロゾームに関する研究で未解明の重要課題として、エネルギー伝達機構の解明が挙げられる。クロロゾームにおいては、バクテリオクロロフィル *c*、*d*、または *e* の自己会合体で捕集された光エネルギーがベースプレートといわれる色素タンパク複合体に伝達され、その後反応中心複合体まで伝達される。このような集光バクテリオクロロフィル自己会合体のドメイン間や自己会合体とベースプレートとの間の構造的・機能的な接続状態は明らかではなく、クロロゾームのエネルギー伝達機構を解明するうえで重要と考えられる。また、クロロゾームを構成するバクテリオクロロフィル *c*、*d*、または *e* の分子構造の多様性は当該分野で注目されている重

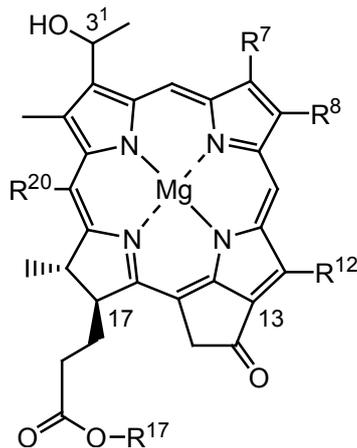


図1 緑色光合成細菌の集光バクテリオクロロフィル (BChl) の分子構造。BChl *c*: $R^7=CH_3$, $R^{20}=CH_3$ 。BChl *d*: $R^7=CH_3$, $R^{20}=H$ 。BChl *e*: $R^7=CHO$, $R^{20}=CH_3$ 。 R^{17} =farnesyl (緑色硫黄光合成細菌の主要なエステル鎖)。

要課題のひとつである。緑色硫黄光合成細菌のクロロゾームには、クロロフィル環側鎖のアルキル基（図1の分子構造の R^8 と R^{12} ）の大きさが異なった同族体や 3¹ 位の立体異性が異なった光学異性体が存在する。これらの集光バクテリオクロロフィル異性体は単量体で存在する場合には同じ分光特性を示すが、クロロゾーム型の自己会合体を形成した場合には超分子構造や分光特性に影響を与える。しかし、これらの異性体がクロロゾーム内でどのように分布して光機能性部位を形成し、光エネルギー捕集・伝達といった光合成アンテナ機能に影響を与えるのかは明らかではなかった。

2. 研究の目的

上記のような状況で、本研究では緑色光合成細菌の生育環境の変化やクロロゾームおよびそのモデル超分子への摂動の印加によるクロロゾーム型色素集積超分子の構成成分組成や超分子変化を誘起する方法論を開発し、それによって引き起こされるスペクトル特性やエネルギー移動などの機能の変化を解析することでクロロゾームの光機能性部位の超分子構造や機能に迫ることを目的とした。

3. 研究の方法

緑色光合成細菌の生育環境変化によるクロロゾームの変化誘起に関する研究では、緑色硫黄光合成細菌 *Chlorobium tepidum* を対象とし培地の成分を変化させて培養し、クロロゾームの特性や集光バクテリオクロロフィル *c* 異性体の組成を各種分光法や逆相高速液体クロマトグラフィーで分析した。

クロロゾーム型超分子への摂動の印加による超分子構造変化誘起に関する研究では、エステル鎖が異なる集光バクテリオクロロフィルのモデル色素分子を合成し、自己組織化させた後に温度変化や有機溶媒接触といった外部刺激を加え、色素分子の自己組織化状態の構造変化にともなうスペクトル変化を各種分光法で解析した。

また、クロロゾームの構成成分である集光バクテリオクロロフィル異性体を三種類の緑色硫黄光合成細菌から単離精製し、それらの脱金属反応を弱酸性条件下で誘起し、集光バクテリオクロロフィル分子構造に依存した脱金属反応特性を速度論的に解析した。

4. 研究成果

緑色光合成細菌の生育環境変化によるクロロゾームの変化誘起に関する研究では、まず緑色硫黄光合成細菌 *Chlorobium tepidum* を培地中のビタミン B_{12} 濃度を低くして培養することによる細胞内のバクテリオクロロフィル *c* の組成変化とクロロゾームのスペクト

ル特性の変化を解析した。培地中のビタミン B₁₂ 濃度を低下させることで、3¹ 位の立体配置 (図 1 の分子構造を参照) が S であるバクテリオクロフィル c 異性体の割合を増加させることが可能なことを示した。また、ビタミン B₁₂ 濃度を低下させた培養では、*Chlorobium tepidum* 内部のクロロゾームの Q_y 帯が短波長側にシフトする傾向が見られた。これらの成果は雑誌論文[1]で発表した。

クロロゾーム型超分子への摂動の印加による超分子構造変化誘起に関する研究では、図 2 に示すような自己会合性亜鉛クロロフィル誘導体を自己組織化させた超分子を用いて推進した。まず炭化水素鎖の異なる自己会合性亜鉛クロロフィル誘導体 1~5 (分子構造を図 2 に示す) をカチオン性界面活性剤である Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) の存在下で水中に分散させたところ、天然のクロロゾームと類似したスペクトル特性を示し、CTAB ミセル内でクロロゾーム型超分子を形成したことが示された。これらのクロロゾーム型超分子を 40-60°C の範囲で加温したところ、エステル鎖の炭素数の少ないクロロフィル誘導体の自己会合体は可視吸収スペクトルの Q_y 帯の変化や CD シグナル強度の増大が起こり、比較的容易に会合体構造が変化し、より秩序だった超分子構造に転換することが示された。それに対して、エステル鎖の炭素数の多いクロロフィル誘導体は加温によっても可視吸収スペクトル、CD スペクトルともに変化が起きにくいことが明らかとなった。これらの現象は、クロロフィル誘導体の 17 位のエステル鎖同士の疎水性相互作用の強さに由来すると考えられた。これらの成果は雑誌論文[2][3]で発表した。

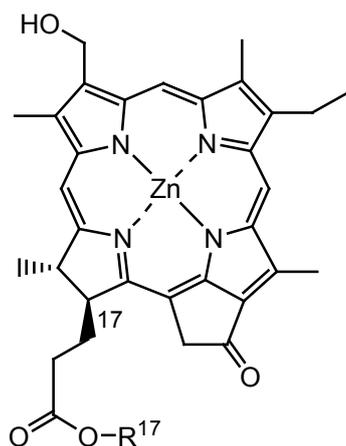


図 2 クロロゾーム型超分子を形成する自己会合性亜鉛クロロフィル誘導体 1~8 の分子構造. 1: R¹⁷=CH₃, 2: R¹⁷=C₃H₇, 3: R¹⁷=C₆H₁₃, 4: R¹⁷=C₁₂H₂₅, 5: R¹⁷=C₁₈H₃₇, 6: R¹⁷=(C₂H₄O)₁₃H, 7: R¹⁷=(C₂H₄O)₂₂H, 8: R¹⁷=(C₂H₄O)₄₄H.

また、17 位に親水性基を有する亜鉛クロロフィル誘導体 6~8 (分子構造を図 2 に示す) を水中に分散させたところ、二量体または単量体に対応すると考えられる紫外可視吸収スペクトルを示した。その溶液をジクロロメタンやクロロホルムと振とうし静置したところ、誘導体 6~8 は 720 nm 付近に Q_y 帯が長波長シフトするとともにその領域に大きな CD シグナルが観測された。このことから、亜鉛クロロフィル誘導体 6~8 は有機溶媒と振とうするという簡便な操作で、二量体または単量体からクロロゾーム型色素自己集積超分子に構造変換したことが示された。これは振とう操作によって水中に微量に溶解した有機溶媒が疎水場の形成に寄与し、クロロゾーム型の色素自己集積体が形成されたと考えられる。このような 17 位側鎖の改変によって色素自己集積体の超分子構造変換が可能になったことは興味深いと思われる。これらの成果は雑誌論文[4]で発表した。

緑色硫黄光合成細菌のクロロゾームを構成するバクテリオクロロフィル c、d、e への摂動の印加による分子構造変化の物理化学的解析として、バクテリオクロロフィル c、d、e の中心金属の脱離反応 (脱金属反応) を弱酸性条件下で誘起し、その反応特性を解析した。その結果、クロロフィル環に直結したホルミル基を有するバクテリオクロロフィル e は分子内にホルミル基を持たないバクテリオクロロフィル c やバクテリオクロロフィル d に比べて脱金属反応速度が著しく遅くなることを見出した。反応条件が同一の場合の脱金属反応の活性化エネルギーをアレニウスプロットから算出したところ、バクテリオクロロフィル e の脱金属反応の活

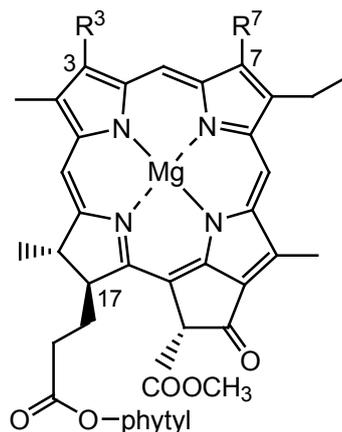


図 3 酸素発生型光合成生物のクロロフィル (Chl) a、b、d の分子構造. Chl a: R³=CHCH₂, R⁷=CH₃. Chl b: R³=CHCH₂, R⁷=CHO. Chl d: R³=CHO, R⁷=CH₃.

性化エネルギーはバクテリオクロロフィル *c* やバクテリオクロロフィル *d* よりも大きいことが明らかとなった。これらの結果を踏まえて、クロロフィル環に直結したホルミル基の位置が脱金属反応特性に与える影響を調べるため、酸素発生型光合成生物のクロロフィル *a*、*b*、*d* (分子構造を図 3 に示す) の脱金属反応解析を弱酸性条件下で行った。その結果、クロロフィル環に直結したホルミル基を有するクロロフィル *b* とクロロフィル *d* はホルミル基を持たないクロロフィル *a* と比較して脱金属反応が遅くなることが明らかとなった。また、7 位にホルミル基を有するクロロフィル *b* の脱金属反応は 3 位にホルミル基を有するクロロフィル *d* よりも遅くなり、ホルミル基の位置がクロロフィルの脱金属反応特性に大きな影響を与えることが示された。これらの成果は雑誌論文[5][6]で発表した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- [1] Y. Saga, J. Harada, H. Hattori, K. Kaihara, Y. Hirai, H. Oh-oka, H. Tamiaki, **Spectroscopic Properties and Bacteriochlorophyll *c* Isomer Composition of Extramembraneous Light-Harvesting Complexes in the Green Sulfur Photosynthetic Bacterium *Chlorobium tepidum* and Its CT0388-Deleted Mutant under Vitamin B₁₂-Limited Conditions**, *Photochemical & Photobiological Sciences*, **7**, 1250-1215 (2008).
- [2] Y. Saga, H. Kida, Y. Nishikawa, H. Tamiaki, **Chlorosomal Self-Aggregation of Zinc Chlorophyll Derivatives in the Presence of Cationic Surfactant Cetyltrimethylammonium Bromide and Organosilanes in Aqueous Phase**, *Photosynthesis. Energy from the Sun*, 315-318 (2008).
- [3] Y. Saga, Y. Nakai, H. Tamiaki, **Temperature-Dependent Spectral Changes of Self-Aggregates of Zinc Chlorophylls Esterified by Different Linear Alcohols at the 17-Propionate**, *Supramolecular Chemistry*, **21**, 738-746 (2009).
- [4] Y. Saga, T. Nakagawa, T. Miyatake, H. Tamiaki, **Changes of Aqueous Self-Assemblies of Zinc Chlorophyll Derivatives Possessing a Hydrophilic Chain by Treatment with Organic Solvents**, *Chemistry Letters*, **38**, 882-883 (2009).
- [5] Y. Hirai, H. Tamiaki, S. Kashimura, Y. Saga, **Physicochemical Studies of Demetalation of**

Light-Harvesting Bacteriochlorophyll Isomers Purified from Green Sulfur Photosynthetic Bacteria, *Photochemistry and Photobiology*, **85**, 1140-1146 (2009).

- [6] Y. Hirai, H. Tamiaki, S. Kashimura, Y. Saga, **Demetalation Kinetics of Natural Chlorophylls Purified from Oxygenic Photosynthetic Organisms: Effect of the Formyl Groups Conjugated Directly to the Chlorin π -Macrocycle**, *Photochemical & Photobiological Sciences*, **8**, 1701-1709 (2009).

[学会発表] (計 3 件)

- [1] 佐賀佳央, 西森理里, 中井佑一, 民秋均, クロロフィル分子の長鎖アルキル鎖の改変による色素自己集積型光合成超分子の機能化, 日本化学会第 89 春季年会, 2009 年 3 月, 日本大学.
- [2] 佐賀佳央, 民秋均, 長鎖アルキル鎖の異なる亜鉛クロロフィル誘導体で形成される色素集積超分子の動的挙動解析, 第 5 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム, 2009 年 5 月, 宇都宮大学.
- [3] Y. Saga, H. Tamiaki, **Characterization of Chlorosomal Self-Assembly of Zinc Chlorophyll Derivatives Esterified by Different Linear Alcohols in Aqueous Solutions**, 18th International Symposium on the Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds, 2009 年 7 月, ガトーキングダム札幌.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐賀 佳央 (SAGA YOSHITAKA)
近畿大学・理工学部・講師
研究者番号: 60411576