

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06101

研究課題名(和文) Red-クロロフィルを結合した光化学系Iの構造・機能・相関

研究課題名(英文) Investigating the Structure-Function Relationship of Photosystem I Associated with Red Chlorophyll

研究代表者

鞆 達也 (Tomo, Tatsuya)

東京理科大学・教養教育研究院神楽坂キャンパス教養部・教授

研究者番号：60300886

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：光合成光化学反応は、低密度の太陽光エネルギーを効率的に還元力に変換するため、光合成生物は集光性色素複合体を進化させてきました。光化学系Iには約100分子のアンテナクロロフィルが結合しており、そのうち約10%は長波長側に吸収帯を持つred-クロロフィルです。本研究では、シアノバクテリア*A. platensis*を用いて光化学系Iの単量体、二量体、三量体の高純度単離精製を行い、蛍光帯の変化を観測しました。さらに、クロロフィルfを結合した光化学系Iについても解析を進め、特定のクロロフィルの構造機能を解明するための生化学的手法と分光学的手法を組み合わせた研究を行いました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、光合成光化学系Iに結合するred-クロロフィルとクロロフィルfの構造と機能を明らかにし、エネルギー移動メカニズムの理解を深めました。これにより、光合成の効率化や進化の過程に関する新たな知見が得られました。

本研究の成果は、光合成のエネルギー移動の理解に貢献するとともに、持続可能なエネルギー生産の基盤知識となります。光合成の効率化に関する知見は、人工光合成システムの開発に役立ち、クリーンエネルギーの生産を促進します。また、農業やバイオテクノロジー分野での新技術の開発にも寄与します。

研究成果の概要(英文)：Photosynthetic photosystem I reactions efficiently convert low-density solar energy into reducing power, and photosynthetic organisms have evolved light-harvesting pigment complexes. Approximately 100 molecules of antenna chlorophyll are bound to photosystem I, of which about 10% are red-chlorophylls with absorption bands on the long wavelength side. In this study, we isolated and purified monomers, dimers, and trimers of photosystem I using the cyanobacterium *A. platensis* with high purity, and observed changes in the fluorescence band. In addition, we also analyzed photosystem I bound with chlorophyll f. We combined biochemical and spectroscopic methods to elucidate the structure-function of these red-chlorophylls.

研究分野：光合成科学

キーワード：光合成 光化学系 シアノバクテリア クロロフィル 光捕集 エネルギー移動

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

光合成光化学反応は、太陽光エネルギーを捕集し、化学エネルギーに変換する重要なプロセスである。特に、光化学系 I は約 100 分子のクロロフィル (Chl) を結合し、高エネルギーから低エネルギーへとエネルギーを移動させるアンテナとして機能する。しかし、光化学系 I には反応中心クロロフィルより低エネルギー側に位置する red-クロロフィル (red-Chl) が普遍的に存在しており、その機能は長らく議論されてきた。

2020 年に申請者らは、red-Chl を多数有する光化学系 I の構造を 2.35Å の分解能で明らかにした。この研究では、種々の光合成生物から単離精製した red-Chl をもつ光化学系 I を比較解析し、反応中心へのエネルギー移動において熱力学的に不利な red-Chl の必然性およびその構造・機能・相関を解明することを目的としている。

エネルギー勾配に逆らった "up-hill" なエネルギー移動の機構解明は、基礎科学として興味深く、エネルギー創生の応用面でも重要である。光化学系 I は約 100 分子の Chl が結合し、その多くはアンテナとして機能し、反応中心クロロフィルにエネルギーを伝達する。反応中心クロロフィルの分子種は主に Chl *a* であり、アンテナ色素も一部の例外を除き Chl *a* である。

本研究の着想に至った背景として、膜タンパク質の結晶化が困難であったにもかかわらず、岡山大学の沈らによる原子レベルの構造報告や、クライオ電子顕微鏡の発展により多くの生物種の光化学系 I の構造が明らかになったことが挙げられる。これにより、以前は漠然としていた red-Chl の機能が明確になりつつある。

これまでの研究成果を基に、様々な光合成生物の光化学系 I を単離精製し、分光法や生化学的方法、分子生物学的方法、構造解析などの手法を用いて、red-Chl の機能を解明することを目指している。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、光化学系 I に普遍的に存在する red-クロロフィル (red-Chl) の局在部位、吸収帯および機能を、構造の知見を基に明らかにすることである。申請者らは、Chl *a* および Chl *f* を結合した光化学系 I の構造を既に解明しており、この構造情報を活用することで、red-Chl が反応中心クロロフィルへエネルギーを移動させるメカニズムを解明することを目指している。本研究は、red-Chl がどのようにしてエネルギー勾配に逆らってエネルギーを移動させ、アンテナ色素として機能するのかを明らかにすることを目指している。これにより、光化学系 I におけるエネルギー移動のメカニズムをより深く理解し、光合成の効率向上に寄与する基礎的知見を提供することを目指している。

### 3. 研究の方法

本研究では、red-クロロフィル (red-Chl) を含む光化学系 I の構造および機能を解明するために、以下の方法を用いる。まず、種々の光合成生物、特に多様性が豊富な光合成藻類を培養し、光化学系 I の標品を単離精製する。次に、生化学的解析を行い、定常吸収および蛍光スペクトルの測定を実施する。これにより、エネルギー移動の詳細なメカニズムを解明する。

さらに、温度依存性の分光解析を実施し、 $kT$  (ボルツマン定数と温度の積) とクロロフィルのエネルギー差に基づいて、異なる温度条件下でのエネルギー移動の様子を観察する。これにより、低温では観測されない "up-hill" なエネルギー移動の機構を明らかにする。

また、新たに単離した光化学系 I の標品について、クライオ電子顕微鏡を用いた高分解能構造解析を行い、red-Chl の局在部位と機能を明らかにする。既知の光化学系 I の構造を参考にし、red-Chl の候補部位およびその近傍のアミノ酸変異を導入し、変異株から光化学系 I を単離してスペクトル解析を行う。

最終的に、これらの解析結果を総合し、クロロフィルの吸収帯の解析を進めることにより、red-Chl の役割と機能を包括的に理解することを目指す。

#### 4. 研究成果

本研究では、特徴的な red-クロロフィルを持つシアノバクテリア *Arthrospira platensis* を用いて、光化学系 I の単量体、二量体、三量体の単離精製に成功した。これにより、会合度の異なる光化学系 I 標品を用いた励起エネルギー移動の解析を行い、吸収帯の重なりと近接がエネルギー勾配に逆らった励起エネルギー移動を実現する知見を得た。また、三量体のクロロフィルを減らす生化学的方法や圧力を供した蛍光測定により、red-クロロフィルの蛍光帯に明瞭な変化を観測することができた。

さらに、クロロフィル *f* を結合した光化学系 I についても解析を進めており、単量体の単離に成功した。単量体の蛍光スペクトルを測定した結果、クロロフィル *f* 由来と考えられる長波長側の特徴的な蛍光帯が消失していた。これにより、クロロフィル *f* が光化学系 I 内でどのように機能するかについて新たな知見を得ることができた。

これらの成果により、光化学系 I に結合するクロロフィルのエネルギー移動メカニズムをより深く理解するための基盤が構築された。また、低エネルギー光の有効利用の基盤技術の獲得に向けた重要なステップとなった。本研究の成果は、光合成機構の解明に大きなインパクトを与えることが期待される。

現在、時間分解分光およびクライオ電子顕微鏡のデータを取得済みで解析を行うことを予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Elvin S. Allakhverdiev, Venera V. Khabatova, Bekzhan D. Kossalbayev, Elena V. Zadneprovskaya, Oleg V. Rodnenkov, Tamila V. Martynyuk, Georgy V. Maksimov, Saleh Alwasel, Tatsuya Tomo, Suleyman I. Allakhverdiev	4. 巻 11
2. 論文標題 Raman Spectroscopy and Its Modifications Applied to Biological and Medical Research	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 386-411
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells11030386	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 篠田 稔行、加藤 公児、長尾 遼、秋本 誠志、鈴木 健裕、堂前 直、沈 建仁、秋田 総理、宮崎 直幸、鞆 達也	4. 巻 32
2. 論文標題 クロロフィルfを結合した光化学系Iの構造機能相関	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 光合成研究	6. 最初と最後の頁 87-93
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yoshitaka Saga, Aiko Tanaka, Madoka Yamashita, Toshiyuki Shinoda, Tatsuya Tomo, Yukihiro Kimura	4. 巻 98
2. 論文標題 Spectral Properties of Chlorophyll f in the B800 Cavity of Light-harvesting Complex 2 from the Purple Photosynthetic Bacterium Rhodoblastus acidophilus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOBIOLOGY	6. 最初と最後の頁 100-105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/php.13491	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Rin Taniguchi, Toshiyuki Shinoda, Tatsuya Tomo, Shen Ye, Yutaka Shibata (11) 代表発表者名（登壇者名）
2. 発表標題 Assignment of fluorescence bands of chlorophyll-f containing photosystem I to elucidate its reaction mechanism by near-infrared light
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rin Taniguchi, Toshiyuki Shinoda, Tatsuya Tomo, Shen Ye, Toru Kondo, Yutaka Shibata
2. 発表標題 Measurement of the electron-transfer rate of photosystem I at the single-molecule level by 2D-fluorescence lifetime correlation spectroscopy
3. 学会等名 第16回分子科学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 王哲, 古谷実佑, 植野嘉文, 豊福玲於奈, 鞆達也, 秋本誠志
2. 発表標題 異なる光質に対する <i>Acaryochloris marina</i> のアンテナおよび光化学系のエネルギー移動制御
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 谷口凜, 篠田稔行, 鞆達也, 叶深, 近藤徹, 柴田穰
2. 発表標題 二次元蛍光寿命相関分光による光化学系 I タンパク質の単一分子電子移動速度の測定
3. 学会等名 第15回分子科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口凜, 篠田稔行, 鞆達也, 叶深, 近藤徹, 柴田穰
2. 発表標題 二次元蛍光寿命相関分光による光化学系 I タンパク質の単一分子電子移動速度の測定
3. 学会等名 第15回分子科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松永 恭子, 本多 未来, 長尾 遼, 沈 建仁, 秋本 誠志, 鞆 達也
2. 発表標題 Arthrospira platensis のred Chl について
3. 学会等名 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 王 哲, 植野 嘉文, 横野 牧生, 沈 建仁, 長尾 遼, 豊福 玲於奈, 鞆 達也, 秋本 誠志
2. 発表標題 2 種類のAcaryochloris marina の光質応答
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Tatsuya Tomo, Suleyman I. Allakhverdiev	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 29
3. 書名 Chlorophyll Species and Their Functions in the Photosynthetic Energy Conversion	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------