

平成 21 年 6 月 26 日現在

研究種目：若手研究 B

研究期間：2007～2008

課題番号：19750148

研究課題名（和文）光合成アンテナ系の分子構築と機能

研究課題名（英文）Self-assembly of light-harvesting antennae in photosynthesis

研究代表者

溝口 正（MIZOGUCHI TADASHI）

立命館大学・生命科学部・准教授

研究者番号：90343665

研究成果の概要：植物や細菌の行う光合成では、クロロフィルやカロテノイド等の光合成色素が見事な光捕集アンテナ部と反応中心部を構築し、現存する系で最高の光電変換効率を有す。様々な光合成生物が生合成する色素類の微細な分子構造に着目し、その構造と組成分布を系統的かつ網羅的に解析した。その結果、色素類には従来考えられていた以上に多様性が見られ、微細な分子構造の違いが光合成器官の形成を精密に制御し、巧みな太陽光利用を実現していることが示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,100,000	0	2,100,000
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	2,900,000	240,000	3,140,000

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：光合成細菌、クロロフィル、カロテノイド、アンテナ複合体、糖脂質、疎水性相互作用

1. 研究開始当初の背景

太陽光の捕集とそれに後続する超高速かつ高効率なエネルギー伝達、光電変換などの光合成諸反応に関する研究は、これまで紅色細菌をモデル生物としたものが先行してきた。これは、X線結晶構造解析による光捕集アンテナ部や反応中心部といった光合成器官の構造が解かれたことに起因する。これらの光合成器官は細胞膜という水溶液中に存在する膜貫通型の色素-蛋白質複合体であり、蛋白質を足場とした光合成色素類（=クロロフィルやカロテノイド）の見事なまでの配置が

成されていた。超高速かつ高効率な光合成諸反応の実現にはこれらの色素類の配置が必須であり、色素類は蛋白質による変調を受けることで、多様な機能発現を担っている。その後、紅色細菌には構成クロロフィル色素の最長吸収波長にもとづく4種類の異なる光捕集アンテナ系（LH1, LH2, LH3, LH4）の存在が確認され、生育環境に応答、最適化することで多彩な発現形態を示すことも分かってきた。異なる環境下で光合成能が最適化された細菌類では、アンテナ系を構成するオリゴペプチドとカロテノイドの組成変化が確認

されていた。一方、クロロフィル色素に関しては、このような多様性が見られないものと考えられてきた。しかし、申請者らは、紅色細菌の一種 *Rhodospseudomonas palustris* において、色素分子の疎水性部位である長鎖エステルに多様性が見られることを見出し、それらの一義的な構造決定に成功した。この種は実際に光応答性を示し、異なる光照度下でそのアンテナ系は最適化されることも確認された。このように光合成色素類の微細な分子構造の違いが、生物の環境適用を可能にし、光合成器官（アンテナ系）を最適化することで巧みな太陽光利用を行っている可能性が示唆された。

2. 研究の目的

光合成生物は、生育環境にตอบสนองし自発的にその光合成能を最適化する。特に、光捕集を担うアンテナ系において、多彩で巧みな調節機構の発現が見られる。そこで、(1) アンテナ系を構成する生体機能性分子（クロロフィルやカロテノイドと糖脂質）の各種分光学的手段に基づく網羅的な解析と同定を行い、色素類の微細な分子構造による光合成調節機能の解明を目的とした。同時に、(2) アンテナ系の再構成を通し、光応答性分子デバイスへの応用も併せて計画した。

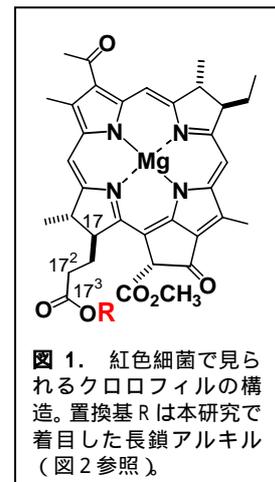
3. 研究の方法

(1) 紅色細菌を中心とした光合成生物における色素類の網羅的かつ系統的な解析を行い、併せて細菌類の光応答性（=多彩なアンテナ系の発現）の有無を検証した。その結果に基づき、発現された多彩なアンテナ複体の単離・精製を行い、それらを構成する色素類との構造的相関を検証した。特にクロロフィルとカロテノイドの疎水性部位である長鎖アルキルに着目し、疎水性相互作用によるアンテナ系の構造安定化という視点からアプローチした。以上の結果を総合し、色素類の微細な分子構造によるアンテナ系の最適化メカニズムを分子レベルで解明することを試みた。(2) 近年の分子生物学的手法の急速な発展に伴い、様々な変異株が作成され光合成研究は活発化されている。本研究でも、このような変異株を積極的に活用し、様々な色素類を人為的に発現・蓄積させることで合成されるアンテナ系への影響を検証した。同時にこれらの変異株が生産する色素類の立体構造を含む詳細な構造解析から、光合成色素類の生合成経路の解明も行った。(3) 緑色細菌に固有のアンテナ系を中心に再構成を行い、その構造解析及び機能評価を行った。再構成時に、様々な誘導体（有機化学的合成品）の利用を積極的に行い、光特性の異なる（天然には存在しない）様々な光応答性分子デバイスの構築にもチャレンジした。(4)

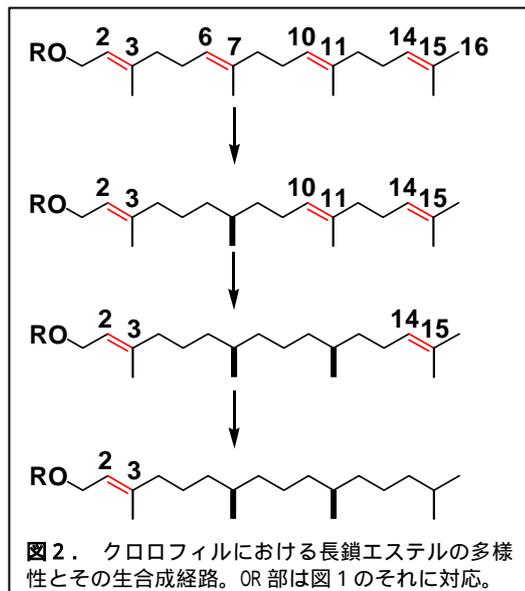
上記の(1)~(3)項では、クロロフィル分子が有する長鎖アルキルに注目してきたが、珪藻などの海洋性光合成生物にはこのアルキル鎖が欠落した特異な色素類が存在する。そこで、珪藻類に関しても、その光合成調節機構の検証を行った。(5) 生体膜の重要な構成成分である脂質（糖脂質）に関しても、光合成色素類と同様に分子レベルでの詳細な構造、組成、分布の解析を行った。ここでも脂溶性部位である脂肪酸の構造に焦点をあて、蒸発光散乱型検出器をオンライン接続した LCMS や NMR などの分光学的手法を駆使して解析を行った。

4. 研究成果

(1) 外部因子（光強度、温度、溶存酸素等）により最適化される光合成アンテナ系とそれを構成する色素類の微細な分子構造に着目し、様々な光合成生物に対して系統的かつ網羅的にその色素解析と分布を検証した。その結果、光合成色素類（=クロロフィル及びカロテノイド）には、従来考



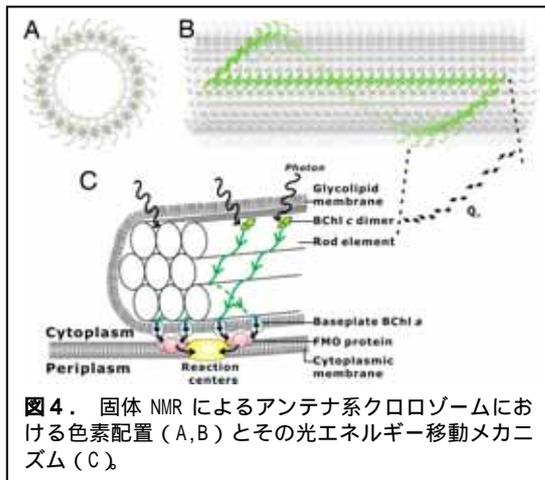
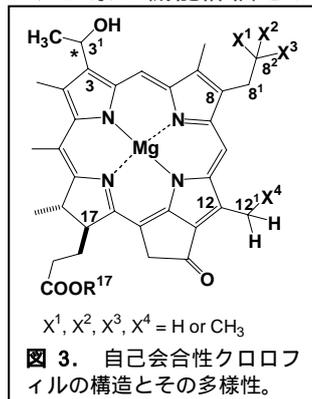
えられてきた以上に多様性が見られ、この多様性は外部因子に強く影響を受けることを見出した。最適化されたアンテナ系には固有の色素類の蓄積が確認され、色素類の微細な分子構造の違いが、生物の環境適用を可能に



し、光捕集アンテナ系の最適化による巧みな太陽光利用を実現していることが示唆され

た。本解析は、新規色素類の発見と同定を可能にし、同時に新種の光合成生物の同定にもつながった(Rhodospseudomonas sp. Ri15 株と命名)。クロロフィル類に関しては、微細な分子構造改変を触媒する遺伝子群の探索と同定、その変異株の作成も行った。

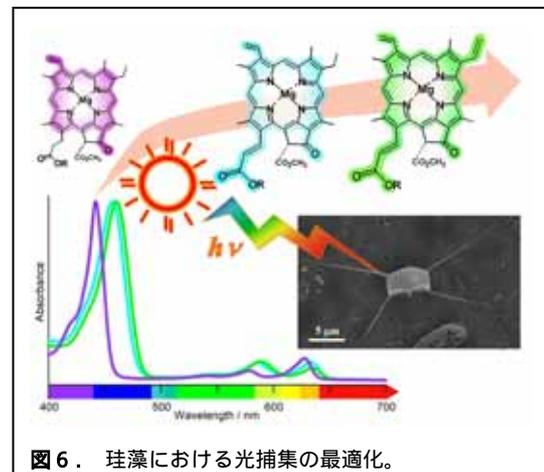
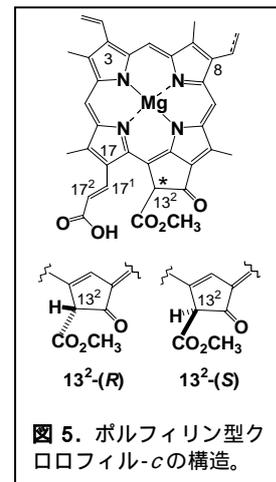
(2) クロロゾームと呼ばれるクロロフィル色素の自己会合体より成るアンテナ系の最新高分解能固体 NMR 分光による構造解析に成功し、同時に、その再構成系の確立を行った。構築したモデルアンテナ系の機能評価をサブピコ秒時間分解過渡吸収分光より行い、天然型と同様の機能発現が確認された。更に、高压下での分光測定を通し、アンテナ系クロロゾームの生理学的意義に関して、新たな知見の提供に成功した。



(3) クロロフィル色素の自発的集積能の向上及びその超分子複合体の構造安定化を指向し、細菌の生合成に基づくモデル色素の合成法を確立し、長鎖エステルが集積体の構造安定化に大きく寄与することを見出した。この構造安定化をより明確かつ実験的に検証するため、パーフルオロアルキル鎖を導入したモデル色素の合成を行い、フッ素化媒体というユニークな反応場での自己集積体の構築にも成功した。

(4) クロロフィル-c (以下 Chl-c と略す) は、酸素発生型光合成を行う藻類などに幅広く分布し、補助集光機能を担う色素と考えられている。Chl-c は、ポルフィリン骨格を有し、その 17 位にアクリレート残基

(17-CH=CH-COOH) が結合しているのが特徴である。また、その 8 位にエチル基が結合した Chl-c₁ やビニル基が結合した Chl-c₂ など数種類の類縁体も存在する。Chl-c は、このような構造的特徴のため、抽出(難溶性) 単離(類縁体の存在) が極めて難しく、詳細な立体構造は未だ決定されていない。そこで、珪藻の一種である Chaetoseros calcitrans から Chl-c を効率よく抽出後、精製し、HPLC により Chl-c₁ と Chl-c₂ を大量に単離することに成功した。¹H-及び¹³C-NMR を組み合わせることで、17 位のアクリレート残基の回転異性構造として、cisoid 構造を有することが確認された。また、キラル HPLC 及び CD スペクトルにより、エナンチオマー型光学異性構造(他の天然クロロフィル類はすべてジアステレオマー)として、13²-(R) 構造を有することも確認された。これらの立体構造解析に加え、溶解性を向上させたモデル色素(フィチルエステル体: 17-CH=CH-COOC₂₀H₃₉) の合成にもした。



(5) 生体膜を構成する重要な脂質成分に関して、その脂肪酸構造に着目した分子レベルでの構造解析を行った。蒸発光散乱型検出器をオンライン接続した LCMS を用いることで、脂肪酸構造にも多様性が見られることを確認した。この多様性は、膜の流動性の維持に関与しているものと予測されたので、培養温度を変化させた細菌を用いて、その脂肪酸組成を詳細に解析した。その結果、温度の上昇とともに脂肪酸中の不飽和結合の増加が確

認められた。また、ある種の細菌では不飽和構造として、特異な環化構造へと変化するものも見られた。光合成色素類のみならず脂質においても、生体膜内在性蛋白質の機能発現をはじめとする光合成調節機構への関与が示唆された。

機能性生体分子(クロロフィル、カロテノイド、糖脂質)の疎水性部位の微細な構造が、超高速・高効率な光合成諸反応を含む光合成調整機構に重要な役割を担うことが確認された。

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 19 件)

T. Mizoguchi, C. Nagai, M. Kunieda, Y. Kimura, A. Okamura and H. Tamiaki, "Stereochemical determination of the unique acrylate moiety at the 17-position in chlorophylls-c from a diatom *Chaetoseros calcitrans* and its effect upon electronic absorption properties", *Org. Biomol. Chem.*, 7 (2009) 2120-2126. 査読有り

T. Mizoguchi, T.-Y. Kim, S. Sawamura and H. Tamiaki, "Pressure-induced red shift and broadening of the Qy absorption of main light-harvesting antennae chlorosomes from green photosynthetic bacteria and their dependency upon alkyl substituents of the composite bacteriochlorophylls", *J. Phys. Chem. B*, 112 (2008) 16759-16765. 査読有り

K. Minamizaki, T. Mizoguchi, T. Goto, H. Tamiaki and Y. Fujita, "Identification of two homologous genes, chlA_I and chlA_{II}, that are differentially involved in isocyclic ring formation of chlorophyll a in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803", *J. Biol. Chem.*, 283 (2008) 2684-2692. 査読有り

T. Mizoguchi, M. Isaji, J. Harada and H. Tamiaki, "Identification of 3,4-didehydrorhodopin as major carotenoid in *Rhodospseudomonas* species", *Photochem. Photobiol. Sci.*, 7 (2008) 492-497. 査読有り

A. Egawa, T. Fujiwara, T. Mizoguchi, Y. Kakitani, Y. Koyama and H. Akutsu, "Structure of light-harvesting bacteriochlorophyll c assembly in chlorosomes from *Chlorobium limicola*

determined by solid-state NMR", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 104 (2007) 790-795. 査読有り

T. Mizoguchi and H. Tamiaki, "The effect of esterifying chains at the 17-propionate of bacteriochlorophylls-c on their self-assembly", *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 80 (2007) 2196-2202. 査読有り

[学会発表](計 49 件)

溝口正、木村ゆうき、永井千尋、国枝雄、民秋均、"珪藻由来のクロロフィル-c の立体構造解析とそのモデル色素の合成"、第 50 回日本植物生理学会年会(名古屋、2009 年 3 月)。

吉富太一、溝口正、民秋均、"緑色硫黄光合成細菌のクロロゾームにおける糖脂質解析と酵素反応を利用した分子構造の決定"、第 23 回生体機能関連化学シンポジウム(横浜、2008 年 9 月)。

民秋均、伊佐治恵、原田二郎、溝口正、"紅色細菌の光合成色素 - タンパク複合体におけるカロテノイド分析: 培養光強度依存性"、日本化学会第 88 回春季年会(東京、2008 年 3 月)。

T. Mizoguchi, J. Harada, S. Yoshida, M. Isaji, H. Tamiaki, "Diversity and localization of bacteriochlorophylls possessing different 17-propionate groups in purple bacterial antennae", *Photosynthesis Congress (PS2007)* (スコットランド・グラスゴー 2007 年 7 月)。

T. Mizoguchi, M. Isaji, J. Harada, H. Tamiaki, "Compositional analysis of carotenoids in purple photosynthetic bacteria, *Rhodospseudomonas* sp. strain Rits, upon irradiated light intensity", *Photosynthesis Congress (PS2007)* (スコットランド・グラスゴー, 2007 年 7 月)。

R. Shibata, T. Mizoguchi, T. Inazu, H. Tamiaki, "Self-aggregation of synthetic zinc chlorophyll derivatives possessing multi-perfluoroalkyl chains in perfluorinated solvents", 第二回フルオラス国際会議 (ISoFT07) (横浜、2007 年 7 月)。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

溝口 正 (MIZOGUCHI TADASHI)
立命館大学・生命科学部・准教授
研究者番号: 90343665