

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 11 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008-2011

課題番号：20350053

研究課題名（和文） 光電変換機能をもつ超分子複合体の階層的組織化と機能展開

研究課題名（英文） Functional Organization of super-molecular complex with the function of photo-electric conversion

研究代表者

南後 守 (NANGO MAMORU)

大阪市立大学・複合先端研究機構・特任教授

研究者番号：90109893

研究成果の概要（和文）：

光合成膜構造を模した階層的ナノ組織体を巧みに構築し、アンテナ系タンパク質色素複合体の基板上での組織化と機能解析を行い、基板上で高効率な光電変換機能をもつタンパク質色素複合体のナノデバイスの開発を行った。また、脂質二分子膜中でのタンパク質色素複合体の AFM 観察ならびに電極基板上でのその複合体の電気化学的応答の解析結果と合わせて、色素複合体の動的構造と機能との相関について明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this proposal is to use photosynthetic antenna pigment complexes, LH2 and LH1-RC of purple photosynthetic bacteria in order to control the direction and orientation of the complex on electrodes with pattern for developing nano-biodevices. The pigment-protein complexes of the modified LH1-RC or LH2 complex was laid down onto functionalized electrodes, such as ITO or Au electrode. Upon illumination photocurrents were successfully measured. Excitation spectra confirmed that these photocurrents were produced by light absorbed by the pigment-protein complexes. Further, LH1 synthetic model polypeptides, analogous to the native LH polypeptide were assembled on Au or ITO electrode. Pigments such as native and chlorophyll derivatives were selected and assembled on the specific site of the LH1 synthetic model polypeptides to control the organization of the pigments on electrodes. The structural effects of the pigments and the synthetic polypeptides in lipid bilayers on the production of the efficient photocurrent were examined as well as using electro-conductive AFM study. These methods were useful for the self-assembly of these complexes in order to study the energy transfer and electron transfer reactions between individual pigments and hydrophobic or polar amino acids in the complexes on the electrode.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2009年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2011年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2012年度	2,200,000	660,000	2,860,000
年度			
総計	15,200,000	4,560,000	19,760,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・高分子化学

キーワード：生体関連高分子、人工光合成、光合成、アンテナ色素複合体、自己組織化、光電変換

1. 研究開始当初の背景

最近のバイオロジーの進展は、単一細胞分子あるいはナノレベルの生体分子が優れたデバイス機能をもつことを明らかにしている。これらの知見により、生体材料を用いて優れた機能をもつ超微細のデバイスの開発が可能になってきている。特に、光合成生物は、40億年の共生、進化を通じ光合成システムの創成を行ってきた。その結果、現状の科学・技術からは想像もできない「超高速・高効率な光エネルギー変換、光検出のデバイス機能」を備えていることが、解明されつつある。この10年間我々と共同研究を行っている Prof. Cogdell らが世界に先駆けて行っている光合成細菌の光捕集機能をもつアンテナ系タンパク質色素複合体の構造とその機能との関係はナノレベルで明らかになってきている。この膜の機能は、ナノレベルで高度に制御されおり、将来のナノテクノロジーが必要とする基本的な考えはすべて見出すことができる。また、この色素複合体の構造あるいは機能を模倣することによって、エネルギー、情報通信や医療/健康などへの高機能のナノデバイス開発が期待される。先に申請者らは、これらの観点から、光合成膜のエネルギー変換系で行われているポルフィリン色素誘導体の距離と配向を制御

した効率の良い電子移動システムをリポソーム膜系ならびに電極上でモデル的に作成した。(J. Am. Chem. Soc., 1990, Langmuir, 1996, 2001, Thin. solid film. 2005)。また、最近、光合成細菌のアンテナ系タンパク質およびクロロフィル色素誘導体を用いて光合成細菌と類似のアンテナ系色素複合体を再構成した。そして、その複合体を脂質二分子膜中ならびに電極基板上で安定に構築できることがわかった (Langmuir, 2005, Biochemistry 2005, Biomacromolecules 2007)。そこで、本申請では、これらの知見をもとに光合成細菌あるいは植物の諸種のアンテナ系膜タンパク質およびそのモデルポリペプチドを精密合成あるいはバイオテクノロジーの手法を用いて調製し、基板上に半導体ならびにチップテクノロジーを駆使して高効率な光エネルギー変換機能をもつ色素分子複合体のナノデバイス化を行った。

2. 研究の目的

光合成細菌での光エネルギー変換機能をもつ光合成アンテナタンパク質/色素複合体(LH2, LH1-RC)は生体色素分子が積み木のごとく階層的組織体を構成し、高効率な光エネルギー変換機能をもつ自己組織化膜を作る。この色素複合体は、ナノレベルで高度に

制御されており、この機能を分子レベルで明らかにすることは、生命活動の基本である生体エネルギー変換システムを理解するうえで非常に興味深い。しかしながら、このタンパク質/色素複合体の動的な構造と機能の関係は分子レベルでまだ明らかでない。本研究では、精密合成あるいは分子生物学的手法を用いて調製した光合成アンテナ色素複合体の組織化を電極基板上で行う。そして、この色素複合体の構造と機能との相関について世界に先駆けて明らかにする。また、この色素複合体の階層的なナノ組織体を巧みに作成し、基板上で高効率な光捕集ならびに光電変換機能をもつタンパク質/色素複合体の構築を目指し、高効率な光エネルギー機能をもつナノバイオデバイス開発への重要な指針を提供する。

### 3. 研究の方法

光合成膜でのアンテナ系タンパク質色素複合体の単離精製ならびに分子生物学的手法によりそれらのタンパク質色素複合体を改変して、基板上に距離と配向を制御して組織化が可能な色素複合体を作成する。また、その構造をモデル化したタンパク質を合成し、色素との複合体を再構成の手法により構築し、安定な組織化に重要なアミノ酸組成、色素構造、脂質の組成、シャペロンタンパク質などを検索する。つぎに、高効率な光エネルギー変換機能をもつアンテナ系光合成膜構造を模した自己組織化単分子膜を最新の基板のパターン化の手法などを取り入れて巧みに構築する。そして、基板上で高効率な光エネルギー変換ならびに光電変換機能をもつタンパク質色素複合体の組織化とナノバイオセルの開発を目指す。

### 4. 研究成果

光合成膜構造を模した階層的ナノ組織体を巧みに構築し、基板上で高効率な光電変換

機能をもつタンパク質色素複合体のナノデバイスの開発を行った。また、脂質二分子膜中でのタンパク質色素複合体の AFM 観察ならびに電極基板上でのその複合体の電気化学的応答の解析結果と合わせて、色素複合体の動的構造と機能との相関について明らかにした。

#### (1) アンテナ系タンパク質色素複合体の基板上での組織化と機能解析

紅色光合成細菌の光捕集機能をもつアンテナ系 (LH) タンパク質 LH2 および光電荷分離機能をもつ反応中 (RC) を含む LH タンパク質 LH1-RC の組織化を脂質二分子膜中および電極基板上で行った。

i) 光合成細菌の RC を含むアンテナ系蛋白質色素複合体 (RC-LH1-His) の配向を制御した基板上での組織化。N 末端および C 末端に His-tag 基をもつ RC-LH1-His を光合成細菌から分子生物学的手法を用いて発現させて、金電極系への配向を制御した組織化に成功した。その確認は光電流応答ならびに導電性 AFM の整流特性から行った。

ii) 光合成細菌のアンテナ系蛋白質色素複合体 (LH2、RC-LH1) の脂質二分子膜中での組織化と光エネルギー移動能の検討。 リポソーム膜中に導入した光合成蛋白質/色素複合体の LH2 および RC-LH1 と予め基板上に化学修飾して固定化した脂質二分子膜と膜融合を行い、基板上での光合成色素複合体の LH2 から RC-LH1 への光エネルギー移動の確認と単分子膜の形成を AFM 観察などから確認した。興味深いことに、基板と脂質二分子膜層間に空隙を作成することによって、効率の良い光エネルギー移動を示す LH2 および RC-LH1 複合体の自己組織化が認められた。

これらの結果、タンパク質複合体 LH2 および LH1-RC を組み合わせて組織化することにより、効率の良い光電変換機能をもつデバ

イスを構築できることがわかった。

(2) アンテナ系モデルタンパク質を用いた色素誘導体の基板上での組織化とその機能解析

基板上で配向制御が可能な諸種の RC ならびに LH2 モデルペプチドを化学合成ならびに遺伝子工学的手法で新たに合成し、金電極基板上での脂質二分子膜を用いたモデルペプチド/光合成色素複合体の2次元組織化を行った。また、それらの複合体の蛍光挙動ならびに基板上での電流応答の比較検討から、色素誘導体間のエネルギーおよび電子伝達機能について検討を行った。その結果、色素の電子伝達機能に膜タンパク質の構造が大きな影響を及ぼすことがわかった。そして、そのタンパク質の疎水性ならびに極性アミノ酸の配列組成が重要な役割を果たしていることがわかった。

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) (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 27 件)

① M. Nagata, M. Amano, T. Joke, K. Fuji, A. Okuda, M. Kondo, S. Ishigure, T. Dewa, K. Iida, F. Secundo, Y. Amao, H. Hashimoto, M. Nango, Immobilization and Photocurrent Activity of a Light-Harvesting Antenna Complex II, LHCII Isolated from a Plant on Electrodes, *ACS Macro Lett.*, 査読有, 1, 296-299(2012).

(Doi:org/10.1021/mz200163e)

② T. Ochiai, M. Nagata, K. Shimoyama, T. Kato, T. Asaoka, M. Kondo, T. Dewa, K. Yamashita, A. Kashiwada, S. Futaki, H. Hashimoto, M. Nango “Two-Dimensional Molecular Assembly of Bacteriochlorophyll a Derivatives Using Synthetic Poly(Ethylene Glycol)-Linked Light-Harvesting Model Polypeptides on a Gold Electrode Modified with Supported Lipid Bilayers” *ACS Macro*

*Lett.*, 査読有, 1, 28-22(2012).

(Doi: org/10.1021/mz200048m)

③ M. Kondo, K. Iida, T. Dewa, H. Tanaka, T. Ogawa, S. Nagashima, K. V. P. Nagashima, K. Shimada, H. Hashimoto, A. T. Gardiner, R. J. Cogdell, M. Nango, “Photocurrent and Electronic Activities of Oriented-His-tagged Photosynthetic Light-Harvesting/Reaction Centre Core Complexes Assembled onto a Gold Electrode”, *Biomacromolecules*, 査読有, 13, 432-438(2012).

(Doi:org/10.1021/bm201457s).

④ S. Sakai, A. Hiro, M. Kondo, T. Mizuno, T. Tanaka, T. Dewa, M. Nango, “Overexpression of *Rhodobacter sphaeroides* PufX-bearing maltose-binding protein and its effect on the stability of reconstituted light-harvesting core antenna complex”, *Photosynthesis Res.*, 査読有, 111, 63-69(2012). (Doi:10.1007/s11120-011-9673-x)

⑤ S. Sakai, A. Hiro, A. Sumino, T. Mizuno, T. Tanaka, H. Hashimoto, T. Dewa, M. Nango, “Reconstitution and Organization of Photosynthetic Antenna Protein Complex Bearing Functional Hydrophilic Domains”, *Chem. Lett.*, 査読有, 40, 1280-1282 (2011). (Doi:10.1246/cl.2011.1280).

⑥ A. Sumino, T. Dewa, T. Takeuchi, R. Sugiura, N. Sasaki, N. Misawa, R. Tero, T. Urisu, A. T. Gardiner, R. J. Cogdell, H. Hashimoto, M. Nango “Construction and Structural Analysis of Tethered Lipid Bilayer Containing Photosynthetic Antenna Proteins for Functional Analysis” *Biomacromolecules*, 査読有, 12, 2850-2858(2011).

(Doi:org/10.1021/bm200585y)

⑦ R. Nakamura, K. Nakagawa, M. Nango, H. Hashimoto, M. Yoshizawa “Dark Excited

States of Carotenoid Regulated by Bacteriochlorophyll in Photosynthetic Light Harvesting”, *J. Phys. Chem. B*, 査読有,115, 3233-3239 (2011).

⑧D. Uchiyama, H. Oikawa, K. Otomo, M. Nango, T. Dewa, S. Fujiyoshia, M. Matsushita “Reconstitution of bacterial photosynthetic unit in lipid bilayer studied by single-molecule spectroscopy at 5 K” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 査読有,13,11615-11619(2011).

(Doi:10.1039/c1cp20172g)

⑨A. Sumino, T. Dewa, M. Kondo, T. Morii, H. Hashimoto, A. T. Gardiner, R. J. Cogdell, M. Nango “Selective Assembly of Photosynthetic Antenna Proteins into a Domain-Structured Lipid Bilayer for the Construction of Artificial Photosynthetic Antenna Systems: Structural Analysis of the Assembly using Surface Plasmon Resonance and Atomic Force Microscopy” *Langmuir*, 査読有 ,27, 1092-1099 (2011).

⑩T. Ochiai, M. Nagata, K. Shimoyama, M. Amano, M. Kondo, T. Dewa, H. Hashimoto, M. Nango “Immobilization of Porphyrin Derivatives with a Defined Distance and Orientation onto a Gold Electrode Using Synthetic Light-Harvesting  $\alpha$ -Helix Hydrophobic Polypeptides” *Langmuir*, 査読有,26, 14419–14422 (2010).

⑪S. Ishigure, T. Mitsui, S. Ito, Y. Kondo, S. Kawabe, M. Kondo, T. Dewa, H. Mino, S. Itoh, M. Nango “Peroxide Decoloration of CI Acid Orange 7 Catalyzed by Manganese Chlorophyll Derivatives at the Surfaces of Micelles and Lipid Bilayers” *Langmuir*, 査読有, 26, 7774–7782 (2010).

⑫T. Mikayama, K. Iida, Y. Suemori, T. Dewa, T. Miyashita, M. Nango, A. T. Gardiner,

Richard J. Cogdell, “The Electronic behavior of a Photosynthetic Reaction Center Monitored by Conductive Atomic Force Microscopy” *J. Nanosci. Nanotech.*,査読有,9, 97-107 (2009).

[雑誌論文] (計 27 件)

①M. Kondo,T. Dewa, M. Nango, “Assembly of Photosynthetic Pigment-Protein Complex on Substrates and Development of Bio-solar cell”, *Bioindustry*, 29, 18-26 (2012).

②南後 守, 橋本秀樹, “光合成膜の反応中心タンパク質複合体を用いた光電変換素子への展開”, *人工光合成と有機系太陽電池*, 日本化学会編, 大倉一郎, 瀬川浩司, 南後守, 福住俊一 企画・編集, 化学同人, Part II (1章), p.40-46 (2010).

[学会発表] (計 73 件)

① Mamoru Nango, “Artificial Photosynthetic Antenna: Self-Assemblies of Light-Harvesting Protein-Pigment Complex and Its Model Complex for Construction of an Artificial Photoenergy Conversion System”, 2010 Korean-Japan Bilateral Symposium on Frontier Photoscience (2010KJFP), Konkuk University, Seoul, Korea, Oct.28-31(2011).

② Mamoru Nango, "Bio-inspired Design of Artificial Photosynthetic Antenna Complexes for Harvesting Organic Solar Cells " Recent Advances in Nano-Micromechanics of Materials”, Northwestern University , May 24-25(2010).

③ Mamoru Nango, “Artificial photosynthetic antenna complex and development of nanobiodevices; Self-assembly of light-harvesting antenna complex onto substrates" “Biopolymer symposium , Japan polymer society meeting”, Tokyo University, July 28-29(2010).

④ Mamoru Nango and Hideki Hashimoto,

“Self-assemblies of light-harvesting complexes and its synthetic model complex on electrodes for construction of an artificial photo-energy conversion system”, “The satellite meeting of the 15<sup>th</sup> International congress of photosynthesis” , Tianjin, China, Aug. 18-22 (2010).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

南後 守(NANGO MAMORU)  
大阪市立大学・複合先端研究機構・特任教授  
研究者番号：90109893

### (2) 研究分担者

山下 啓司(YAMASHITA KEIJI)  
名古屋工業大学・工学研究科・教授  
研究者番号：90158155

出羽 毅久(DEWA TAKEHISA)  
名古屋工業大学・工学研究科・准教授  
研究者番号：70335082

### (3) 連携研究者

該当者なし