

平成 21年 5月 22日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007-2008

課題番号：19614007

研究課題名 (和文) 光合成光化学反応の酸化還元電位制御機構の解明

研究課題名 (英文) Clarification of the redox potential regulation in electron transfer reaction of photosystem

研究代表者

鞆 達也 (TOMO TATSUYA)

京都大学大学院・人間環境学研究科・研究員

研究者番号:60300886

研究成果の概要：

クロロフィル *d* を主要色素としてもつ、シアノバクテリア *Acaryochloris marina* はその吸収帯がクロロフィル *a* と比較して約 100mV 低く、酸化還元電位の制御において非常に興味深い生物である。この生物から光化学系 I,II を単離精製し、その反応中心色素がクロロフィル *d* であることを定常および時間分解分光測定により決定した。また、その酸化還元電位はクロロフィル *a* 型の光化学系と変わらないことを明らかにした。これは、酸化還元電位の調節が還元側で制御されていることを意味しており、光化学系電荷分離の基本的原理を構築するものである。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
平成 20 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：光合成科学

科研費の分科・細目：時限付き分科細目・光生命科学

キーワード：光合成、光化学系、シアノバクテリア、酸化還元電位、クロロフィル、反応中心

1. 研究開始当初の背景

光合成光化学系は酸化還元電位に従って電子伝達を行い還元力を得る (光合成電子伝達系)。これら、電子伝達成分は逆反応が生じないようにタンパク質に巧妙に配置されており、呼吸鎖電子伝達系との最大の相違は酸化還元電位に逆らった電荷分離を生じることにある。また、光化学系 II は水

を分解し酸素を発生するという決定的な相違がある。この最大の要因の一つとして、光化学系 II 反応中心の水より高い酸化還元電位が挙げられる。電子伝達成分としてクロロフィルおよびフェオフィチンは重要な役割を占めており、それ自身あるいは周囲のタンパク質の環境により酸化還元電位

の調節が行われている。クロロフィル *d* を持つシアノバクテリア *Acaryochloris* は 1996 年にパラオで (Miyashita et al., *Nature*, 1996)、2004 年には淡路島で (Murakami et al., *Science*, 2004) 発見された。*Acaryochloris marina* は主要色素として従来のクロロフィル *a* とは異なるクロロフィル *d* を持つ。クロロフィル *d* は吸収極大を約 30nm、クロロフィル *a* のそれと比較して長波長 (低エネルギー) 側にもつことから酸化還元電位の制御の面で非常に興味深い材料である。実際、光化学系 I の反応中心は高等植物のそれと比較して約 100mV 程度酸化還元が低下していることが報告されている。この場合、光化学系 I 反応中心への電子供与体の酸化還元電位も変化してなくてはならないが現在は未解明である。また、光化学系 II 反応中心は水から電子を引き抜かなければならないが、もし反応中心がクロロフィル *d* ならば、光化学系 I と同様に酸化還元電位の低下を生じる可能性があり、このことは *Acaryochloris marina* が緻密な電子伝達の制御を行わなければならないことを意味する。この問題も光化学系 II の純粋な標品が得られていないため未だ解明されておらず、世界中で議論の的となっている。申請者はクロロフィル *d* を還元することによって、その吸収スペクトルがクロロフィル *a* とほぼ同じになること、それを酸化することによってもとのクロロフィル *d* の吸収スペクトルに可逆的に変化することを報告した (Tomo et al. *CPL* 2006)。この現象は酸化還元電位の変化に結びつく非常に重要な反応である。これらの問題の解決には、高度に純化された試料が不可欠であるが、生化学的困難さより、単離生成は報告されていなかった。

2. 研究の目的

本研究では特殊なシアノバクテリア *Acaryochloris marina* から光化学系 I, II 複合

体を単離精製し、物理化学的手法をもちいて、反応中心および光化学系 II の反応中心色素の同定と酸化還元電位の決定を行う。また、計算機シミュレーションを行い、データを相補する。得られた結果から、光合成の電位制御メカニズムを通常的光化学系に適用することにより、電子伝達制御メカニズムを一般化することを目的とする。

3. 研究の方法

シアノバクテリアから、光化学系 II の単離は一般に困難であると言われている。近年は分子生物学的に標識を導入することにより、シアノバクテリアからの光化学系 II の単離が報告されているが、本研究で用いた *Acaryochloris marina* の形質転換は成功していないため、生化学的手法を用いて光化学系 II および光化学系 I の単離精製を試みた。カラム条件などを検討した結果、世界でもっとも純化された光化学系 I, II 複合体を単離精製した。HPLC において色素組成を決定し、定常および時間分解吸収、蛍光スペクトルの解析、光差誘起 FTIR の解析から、反応中心の分子種を決定した。光化学系 I に関しては酸化還元電極による direct な測定方法により初期電子供与体の電位を決定した。また、クロロフィルの C8 位をビニル基に変異した株から光化学系 II を単離精製し、その光に対する制御機構を生化学的手法、および分光学的手法により明らかにした。これらの結果をもとに計算機シミュレーションも行った。

4. 研究成果

クロロフィル *d* を主要色素としてもつ、*Acaryochloris marina* はそのエネルギーがクロロフィル *a* と比較して約 100mV 低く、光合成電子伝達系において、酸化還元電位の制御の面で非常に興味深い材料である。光化学系 II は水をも分解可能な高電位を形成する膜

タンパク質超分子複合体であるが、その反応中心がクロロフィル *a* であるか *d* であるかは議論の的であった。我々は *Acaryochloris marina* から純度高く光化学系 II 標品を単離精製することに成功し、可視および赤外分光法により、この反応中心がクロロフィル *d* の二量体であることを明らかにした。クロロフィル *d* の吸収するエネルギーが低いことから、酸化側あるいは還元側でこれを補償する必要がある。我々はジチオナイトで還元された光化学系 II の初期電子受容体がクロロフィル *a* 型の反応中心とは異なり、*Acaryochloris marina* では電子伝達活性を失うことを、時間分解蛍光、および定常型における吸収変化より確認し、このことから、*Acaryochloris marina* は還元側の電位を上げることにより酸化還元電位を調節しエネルギーの補償を行っていることを見いだした。また、光化学系 I においても、純度高い標品の精製に成功し、反応中心がクロロフィル *d* の二量体であることを確認した。その反応中心の酸化還元電位を測定したところ、従来の酸化側の電位を変えることによりエネルギーを補償している報告とは異なり、還元側の電位を上げることにより調節していることを明らかにした。これらの結果は *Acaryochloris marina* の光化学系 I、II において、還元側で電位を調節しているという新たな知見を見いだした。このことから、光化学系の酸化還元電位調節において、変化させてもよい還元側と変化してはいけない酸化側が存在することが明らかとなり、この結果は、光化学系の基本的原理を構築するものであった。

また、クロロフィルをモノビニル型からジビニル型に変化させた、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC6803 から光化学系 II を単離精製し、その性質を調べた結果、ジビ

ニル型のクロロフィルをもつ光化学系 II はアクセプター側の光阻害を受けやすいことを明らかにした。これは、ジビニル形成による構造変化が、クロロフィル三重項形成の電子状態および電位に変化を与えるためだと考えられ、分子理論計算の結果からも一重項と三重項の間のエネルギーギャップが小さいことを示し、実験結果を相補するデータが得られた。この研究は、光合成の効率良い電子伝達の原理を考える上で、重要な情報であった。

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)

[雑誌論文] (計 8 件)

1. Replacement of chlorophyll with di-vinyl chlorophyll in the antenna and reaction center complexes of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803: Characterization of spectral and photochemical properties

Tatsuya Tomo, Seiji Akimoto, Hisashi Ito, Tohru Tsuchiya, Michitaka Fukuya, Ayumi Tanaka, and Mamoru Mimuro

Biochimica Biophysica Acta (2009), 1787, 191-200 **査読有**

2. Detection of the $D_0 \rightarrow D_1$ transition of β -carotene radical cation photoinduced in photosystem II

Tatsunori Okubo, Tatsuya Tomo, Takumi Noguchi

Photochemical & Photobiological Science (2009), 8, 157-161 **査読有**

3. Characterization of highly purified photosystem I complexes from the chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina*, MBIC 11017

Tatsuya Tomo, Yuki Kato, Takehiro Suzuki, Seiji Akimoto, Tatsunori Okubo, Takumi

Noguchi, Koji Hasegawa, Tohru Tsuchiya, Kazunori Tanaka, Michitaka Fukuya, Naoshi Dohmae, Tadashi Watanabe, and Mamoru Mimuro
Journal of Biological Chemistry (2008), 283, 18198-18209 **査読有**

4. Isolation and spectral characterization of Photosystem II reaction center from *Synechocystis* sp. PCC 6803
Tatsuya Tomo, Seiji Akimoto, Tohru Tsuchiya, Michitaka Fukuya, Kazunori Tanaka, and Mamoru Mimuro
Photosynthesis Research (2008), 98, 293-302
査読有

5. Two unique cyanobacterium lead to a traceable approach of the first appearance of oxygenic photosynthesis
Mamoru Mimuro, Tatsuya Tomo, Tohru Tsuchiya
Photosynthesis Research (2008), 97, 167-176
査読有

6. Niche adaptation and genome expansion in the chlorophyll d-producing cyanobacterium *Acaryochloris marina*
Wesley D. Swingley, Min Chen, Patricia C. Cheung, Amber L. Conrad, Liza C. Dejesa, Jicheng Hao, Barbara M. Honchak, Lauren E. Karbach, Ahmet Kurdoglu, Surobhi Lahiri, Stephen D. Mastrian, Hideaki Miyashita, Lawrence Page, Pushpa Ramakrishna, Soichirou Satoh, W. Matthew Sattley, Yuichiro Shimada, Heather L. Taylor, Tatsuya Tomo, Tohru Tsuchiya, Zi T. Wang, Jason Raymond, Mamoru Mimuro, Robert E. Blankenship, and Jeffrey W. Touchman
Proceedings of the National Academy of Science USA (2008), 105, 2005-2010 **査読有**

7. Spectral properties of the CP43-deletion of

Synechocystis sp. PCC6803
Yuichiro Shimada, Tohru Tsuchiya, Seiji Akimoto, Tatsuya Tomo, Michitaka Fukuya, Kazunori Tanaka, Mamoru Mimuro
Photosynthesis Research (2008), 98, 303-314
査読有

8. Identification of the special pair of photosystem II in a chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium
Tatsuya Tomo, Tatsunori Okubo, Seiji Akimoto, Makio Yokono, Hideaki Miyashita, Tohru Tsuchiya, Takumi Noguchi, Mamoru Mimuro
Proceedings of the National Academy of Science USA (2007), 104, 7283-7288 **査読有**

[学会発表] (計 11 件)

1. *Synechocystis* sp. PCC 6803 からの光化学系 II 反応中心複合体の単離と分光特性の解析
鞆達也, 秋本誠志, 土屋徹, 福谷通孝, 田中一徳, 三室守
第 50 回日本植物生理学会年会、2009 年 3 月 21 日～ 24 日、名古屋大学東山キャンパス

2. 光化学系IIの酸素発生系における CP43-354位のグルタミン酸残基の役割
嶋田友一郎、鈴木博行、土屋徹、鞆達也、野口巧、三室守
第 50 回日本植物生理学会年会、2008 年 3 月 21 日～ 24 日、名古屋大学東山キャンパス

3. 分光電気化学的手法による *Acaryochloris marina* の光化学系I一次電子供与体の酸化還元電位計測
加藤祐樹、鞆達也、仲村亮正、土屋徹、三室守、渡辺正
第 49 回日本植物生理学会年会、2008 年 3 月 20 日～ 22 日、札幌コンベンションセンター

4. クロロフィル *d*を主要色素としてもつシアノバクテリアの光化学系 I のサブユニ

ット組成と光化学反応の解析

鞆達也、加藤祐樹、鈴木健裕、秋本誠志、野口巧、土屋徹、堂前直、渡辺正、三室守
第49回日本植物生理学会年会、2008年3月20日～22日、札幌コンベンションセンター

5. 光化学系 II-CP43 欠損株における蛍光特性評価

嶋田友一郎、土屋徹、秋本誠志、田中一徳、福谷通孝、鞆達也、三室守
第49回日本植物生理学会年会、2008年3月20日～22日、札幌コンベンションセンター

6. Akimoto, M. Yokono, T. Tomo, A. Murakami, and M. Mimuro

7th International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors in Photosynthetic Organisms, Dec. 9-14, 2007, Kyoto (Japan)

7. Components and photochemical reactions in photosystem II of the Chl *a*-dominated cyanobacterium, *Acaryochloris marina*.

M. Mimuro, T. Tomo, T. Tsuchiya, T. Okubo, T. Noguchi, and S. Akimoto

7th International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors in Photosynthetic Organisms, Dec. 9-14, 2007, Kyoto (Japan)

8. The characterization of Photosystem I and II in a chlorophyll *a*-dominated cyanobacterium.

T. Tomo, Y. Kato, S. Akimoto, T. Noguchi, T. Tsuchiya, T. Watanabe, and M. Mimuro

7th International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors in Photosynthetic Organisms, Dec. 9-14, 2007, Kyoto (Japan)

9. Identification of special pair and

Chl₂ of Photosystem II in *Acaryochloris marina*

T. Tomo, T. Okubo, S. Akimoto, H. Miyashita, T. Tsuchiya, T. Noguchi, and M. Mimuro

14th International Congress of Photosynthesis, Jul. 22-27, 2007, Glasgow (UK)

10. Unique optical properties of LHC II isolated from *Codium fragile* - its correlation to protein environment.

T. Tsuchiya, T. Tomo, S. Akimoto, A. Murakami, and M. Mimuro

14th International Congress of Photosynthesis, Jul. 22-27, 2007, Glasgow (UK)

11. 溶液中におけるケトカロテノイドの超高速励起緩和

秋本誠志、村井陽介、横野牧生、村上明男、高市真一、樋口倫也、鞆達也、三室守
第23回化学反応討論会（神戸大学百年記念館六甲ホール）2007年6月13～15日

6. 研究組織

研究代表者

鞆達也 (Tomo, Tatsuya)

京都大学大学院人間環境学研究科・研究員
研究者番号:60300886