

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06563

研究課題名(和文) 紅色光合成細菌による近赤外光電変換メカニズムの解明

研究課題名(英文) Photoelectric conversion of near infrared light in purple photosynthetic bacteria

研究代表者

木村 行宏 (Kimura, Yukihiko)

神戸大学・農学研究科・准教授

研究者番号：20321755

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：紅色光合成細菌は、植物やシアノバクテリアが利用しない近赤外光を有用なエネルギーに変換することにより光合成を営んでいるが、その詳細なメカニズムは不明である。本研究では、様々な紅色光合成細菌が有する光捕集1反応中心色素タンパク質複合体(光合成反応を担う心臓部)を物理化学的なアプローチで調査することにより、なぜエネルギーの低い近赤外光を利用できるのか、どのように効率的なエネルギー変換を可能にしているのかについて、メカニズムの一端を解明する重要な知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

持続可能な社会の構築においてエネルギー資源の問題は最も重要な問題の一つである。近赤外光は地上に降り注ぐ太陽光の約4割を占めるが、そのエネルギーの低さ故に未利用のエネルギー資源となっている。原始の光合成生物である紅色光合成細菌は、この低エネルギーの近赤外光を有用なエネルギーに変換する能力を備えており、そのメカニズムの解明は近赤外応答型人工光合成システム基盤創出の可能性を秘めたおり、エネルギー資源の問題解決に繋がる重要な課題である。

研究成果の概要(英文)：Purple photosynthetic bacteria carry out photosynthesis by converting near-infrared light, which is unused by plants and cyanobacteria, into useful energy, but the detailed mechanism of this process is remained to be resolved. In the present study, we investigated the light-harvesting 1 reaction center pigment-protein complex (the heart of the purple bacterial photosynthetic reaction) from various purple bacteria using physicochemical approaches to understand (1) why they can utilize low-energy near-infrared light and (2) how they can efficiently convert the energy and obtained important knowledge to understand one part of the mechanism.

研究分野：生物物理

キーワード：光合成 近赤外光 光電変換 紅色細菌 uphillエネルギー移動 カルシウム

1. 研究開始当初の背景

光合成生物は光エネルギーを化学エネルギーに変換する天然のエネルギー変換・貯蔵システムである。高等植物やシアノバクテリアなどの酸素発生型光合成生物は比較的高エネルギーの可視光を利用しており、人工光合成への応用も進展している。一方、地上に降り注ぐ太陽光の約4割はエネルギーの低い近赤外光であり、これらは未利用のエネルギー資源である。原始の光合成生物である紅色光合成細菌は、この近赤外光を電気エネルギーに変換する光捕集1反応中心複合体(LH1-RC)を備えており、近赤外光をエネルギー源とした光-物質変換を営んでいる。本研究代表者らは紅色細菌の中でも特に低エネルギー吸収特性を示す *Thermochromatium*(*Tch.*) *tepidum* 由来の LH1-RC、及びその類縁菌や異種発現系ハイブリッド株について、構造機能相関の解明を目的とした研究を展開してきた。近年、構造解析技術の進展により LH1-RC 構造の詳細が明らかになってきたが、機能的な側面に関しては未だに不明な点が多く残されている。特に、(1) 低いエネルギー吸収およびエネルギー勾配を遡る uphill 型エネルギー移動、(2) 効率的なキノン輸送型の電子伝達反応機構については十分な理解には至っていない。(1)は一見すると自然の法則に矛盾する現象である。紅色細菌がどのように低エネルギー状態から高エネルギー状態への遷移を可能にしているのかは不明であり、その分子機構の解明は近赤外光エネルギー有効活用の実現において極めて重要であり、学術的な観点からも極めて興味深い。(2)についてはキノンがキノールに還元され、キノールの拡散輸送による電子伝達機構が提唱されているが、これを実験的に捉えた証拠は報告されておらず、本質的な解明には至っていない。加えて、キノン輸送機構は紅色光合成細菌だけでなく、その進化型である葉緑体の光化学系 II においても解明されておらず、光合成の分野に残された重大な課題の一つである。

2. 研究の目的

本研究では、種々の紅色光合成細菌由来の LH1-RC を用いて、(1)低エネルギー吸収特性ならびに uphill 型エネルギー移動機構、および(2)キノン輸送機構を詳細に解析することにより、紅色細菌における近赤外光電変換メカニズムを明らかにすることである。(1)では、低エネルギー吸収特性の起源の解明、uphill エネルギー移動の直接観測、(2)では、野生型およびハイブリッド型 LH1-RC におけるキノン還元・キノール生成の検出、キノン・キノール輸送の実験的証明、キノン・キノール輸送経路の特定を目的とした。

3. 研究の方法

(1)低エネルギー吸収特性ならびに uphill 型エネルギー移動機構

低エネルギー吸収特性では、紫外光励起の共鳴ラマン分光法により LH1 BChl a の C=O 伸縮振動を観測し、LH1 Trp との水素結合相互作用の強さや配向状態に関する分子情報を獲得する。一部の紅色硫黄細菌では LH1 Qy バンドが Ca²⁺除去により大きくブルーシフトすることから、Ca²⁺結合/除去型 LH1-RC について上記ラマン分光法を適用し、LH1 の BChl a 二量体と周辺タンパク

質との相互作用を検証することにより、どのような分子機構で Ca^{2+} が LH1-RC の低エネルギー吸収特性を制御しているのかを明らかにする。また、種々の紅色細菌について、従来の手法では正確な測定が困難であった RC スペシャルペアの吸収エネルギーを観測可能な手法を確立し、uphill エネルギーギャップの測定を可能にする。

uphill 型エネルギー移動機構では、LH1 Qy バンドをピコ秒レーザーで励起し、RC への uphill エネルギー移動の後、RC 由来の蛍光減衰を観測することにより、LH1 から RC への uphill エネルギー移動速度を計測する。既報の結果との比較により、uphill エネルギー移動を制御するエネルギーギャップ、速度、効率の関係を明らかにする。

(2)キノン輸送機構

Rba. sphaeroides, *Tch. tepidum* に加え、*Tch. tepidum* 由来の LH1 と *Rba. sphaeroides* 由来の RC を有するハイブリッド型紅色細菌 TS2 を用い、光合成電荷分離反応に伴って生じるキノン (Q_b)、キノール (Q_bH_2) を高感度 FTIR 分光システムにより検出する。 ^{13}C 、 ^2H 同位体の効果を調べることにより、LH1-RC における Q_b 、 Q_bH_2 由来のマーカースペクトルを特定する。光合成タンパク質、膜脂質、キノンを用いて、紅色細菌由来の光合成膜を再構成する手法を確立し、LH1-RC の ^{13}C 置換体や側鎖長の異なるユビキノンをを用いて再構成した試料の Q_b および Q_bH_2 マーカースペクトルをモニタリングすることにより、キノン輸送経路を特定する。

4. 研究成果

(1)低エネルギー吸収特性ならびに uphill 型エネルギー移動機構

一部の紅色硫黄細菌 (*Trv.strain970*, *Tch. tepidum*, *Alc. tepidum*) の光集光タンパク質 LH1 では、C 末端部位に Ca^{2+} が結合し、多くの紅色細菌で保存されている Trp 残基を介して BChl a 集合体の分子配向を巧みに制御し、より低エネルギーの近赤外光吸収を可能にしていることを明らかにした。また、光電変換を担う RC スペシャルペアの吸収エネルギーは LH1 の存在によって影響を受ける可能性があることが明らかになってきており、RC を単離していた従来の手法では正確なエネルギーを求めることができなかった。そこで RC スペシャルペアの吸収エネルギーを検出可能なシステムを構築し、種々の紅色光合成細菌について無傷状態での測定を行なった。その結果、*Trv.strain970* では、 Ca^{2+} 結合によってスペシャルペアの吸収ピークも異常に長波長シフトしていることを見出した。*Trv.strain970* では LH1 の吸収バンドも著しく長波長していることから、LH1 から RC への uphill エネルギーギャップが非常に大きいと考えられていたが、RC も長波長シフトすることによってギャップを小さくするような仕組みが存在していることが明らかになった。また、LH1 が 32 分子の BChl a 集合体であるのに対し、スペシャルペアは僅か 2 量体である。それにも関わらず、*Trv.strain970* の系では 2 量体のみでも吸収エネルギーを大きくシフトさせていることから、BChl a は光捕集アンテナとして未知のポテンシャルを秘めており、構造解析を含めたより詳細な研究を進展させることにより、近赤外領域の効率的なアンテナシステムを構築する重要な知見が得られると期待される。

紅色細菌の uphill エネルギー移動速度については、これまでの報告ではその速度は uphill エネルギーギャップに依存しないとされていた。本実験において、よりエネルギーギャップの大きな種 (*Trv.strain970*, *Tch. tepidum*, TS2) も含めてエネルギー移動速度を評価した結果、uphill エネルギー移動の速度は uphill エネルギーギャップに比例することを見出した。ま

た、上記時間分解蛍光分光法に加え、光誘起赤外分光法のデータ（未公表）を考慮した結果、*Trv.strain970* ではスペシャルペアの電荷分離効率が非常に高く、 uphill エネルギーギャップが大きいためにエネルギー移動速度は遅いが、光（輻射失活）や熱（無輻射失活）によるエネルギー損失を伴わずに効率的なエネルギー移動を実現していることを明らかにした。

(2)キノン輸送機構

初めに *Rba. sphaeroides*, *Tch. tepidum*, *Tch. tepidum* 由来の LH1 と *Rba. sphaeroides* 由来の RC を有するハイブリッド型紅色細菌 TS2 を用い、光合成電荷分離反応に伴って生じる Q_B 、 Q_BH_2 を検出可能な高感度光誘起 FTIR 分光システムを構築した。得られたスペクトルに対する ^{13}C 、 2H 同位体の効果を詳細に検討することにより、LH1-RC における Q_B 、 Q_BH_2 由来のマーカースペクトルを同定した。次に、光合成タンパク質、膜脂質、キノンをを用いて紅色細菌由来の光合成膜を再構成する手法を確立した。LH1-RC の ^{13}C 置換体や側鎖長の異なるユビキノンをを用いて再構成膜を構築し、光誘起赤外分光法を用いて Q_B および Q_BH_2 マーカースペクトルをモニタリングすることにより、光合成キノン輸送機構を調べた。その結果、キノンの側鎖長に依存してキノン置換率が変化することを明らかにした。これらの結果と既報の X 線結晶構造の情報から、キノン分子が LH1 タンパク質の膜貫通領域に存在する空間的制約のある疎水性ポケットを通して LH1-RC 内外を移動していることを強く示唆する結果を示した。

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 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kishi Rikako, Imanishi Michie, Kobayashi Masayuki, Takenaka Shinji, Madigan Michael T., Wang-Otomo Zheng-Yu, Kimura Yukihiro	4. 巻 1862
2. 論文標題 Quinone transport in the closed light-harvesting 1 reaction center complex from the thermophilic purple bacterium <i>Thermochromatium tepidum</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics	6. 最初と最後の頁 148307 ~ 148307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbabi.2020.148307	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 該当する

1. 著者名 Seto Ryuta, Takaichi Shinichi, Kurihara Toshiyuki, Kishi Rikako, Honda Mai, Takenaka Shinji, Tsukatani Yusuke, Madigan Michael T., Wang-Otomo Zheng-Yu, Kimura Yukihiro	4. 巻 59
2. 論文標題 Lycopene-Family Carotenoids Confer Thermostability on Photocomplexes from a New Thermophilic Purple Bacterium	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2351 ~ 2358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.0c00192	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 該当する

1. 著者名 Imanishi, M., Takenouchi, M., Takaichi, S., Nakagawa, S., Saga, Y., Takenaka, S., Madigan, M.T., vermänn, J., Wang-Otomo, Z.-Y., and Kimura Y.	4. 巻 58
2. 論文標題 A dual role for Ca ²⁺ in expanding the spectral diversity and stability of LH1-RC photocomplexes of purple phototrophic bacteria	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2844-2852
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.9b00351	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 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大友征宇, 木村行宏
2. 発表標題 紅色細菌の光捕集複合体の多様性
3. 学会等名 日本植物生理学会 第6回光合成細菌ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kimura, Y., Seto, R., Kishi, R., Imanishi, M., Takaichi, S., Takenaka, S., Madigan, M.T., and Wang-Otomo, Z.-Y.
2. 発表標題 Spectroscopic characterization of a bacteriochlorophyll b-based LH1-RC complexes from thermophilic purple bacterium <i>Blastochloris tepida</i>
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the BSJ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Imanishi, M., Takenouchi, M., Takaichi, S., Nakagawa, S., Saga, Y., Takenaka, S., Madigan, M.T., Overmann, J., Wang-Otomo, Z.-Y., and Kimura, Y.
2. 発表標題 A dual role for calcium in expanding the spectral diversity and stability of LH1-RC photocomplexes of purple phototrophic bacteria
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the BSJ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀬戸隆太、川上知朗、岸利華子、今西三千絵、高市真一、竹中慎治、M.T. Madigan、大友征宇、木村行宏
2. 発表標題 バクテリオクロロフィルbを有する好熱性紅色細菌 <i>Blastochloris tepida</i> の耐熱性獲得機構
3. 学会等名 日本農芸化学会 関西・中部支部2019合同神戸大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今西三千絵、竹之内瑞貴、高市真一、中川支央里、佐賀佳央、竹中慎治、M.T. Madigan、大友征宇、木村行宏
2. 発表標題 紅色光合成細菌由来光捕集1反応中心複合体のスペクトル多様性と構造安定性におけるカルシウムイオンの役割
3. 学会等名 第27回光合成セミナー：反応中心と色素系の多様性
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀬戸隆太、川上知朗、岸利華子、今西三千絵、高市真一、竹中慎治、M.T. Madigan、大友征宇、木村行宏
2. 発表標題 新規好熱性紅色細菌Blastochloris tepida由来LH1-RCの耐熱化機構と低エネルギー吸収特性の要因
3. 学会等名 第27回光合成セミナー：反応中心と色素系の多様性
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<http://www.edu.kobe-u.ac.jp/ans-bpc/>

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			
米国	Southern Illinois Univ			
中国	Chinese Academy of Sciences			
ドイツ	Braunschweig Univ Technol			