3P277

光合成反応中心における初期電荷分離過程の理論解析

○山崎 秀樹、鷹野 優、中村 春木 (阪大・蛋白研)

光合成反応中心の電子移動過程において、蛋白場の影響は重要だと考えられている。実際、初期電荷分離過程で重要な役割を果たすクロロフィル2量体(スペシャルペア:SPとする)に関して *Rhodobacter (Rb.) sphaeroides* のSPのカチオン状態のスピン密度のLおよびMクロロフィルへの存在比を調べた実験研究によると、野生型ではその存在比は2:1でL側が多く、特定のアミノ酸を変異させることでその存在比が変化することが明らかになっている。このような背景の下、本研究では光合成反応中心のスピン密度存在比と蛋白場の関係を理論計算により精密に評価し、その機構の詳細を明らかにすることを目的としている。

構造は *Rb. sphaeroides* のX線構造で、光を当てずに決定した構造(PDBID: 1 AIJ)と光照射下での構造(PDBID:1AIG)を用いた。計算にはGaussianプログラムを用い密度汎関数(DFT)法による非経験的分子軌道計算を行った。また交換相関項にはB3LYPを用いた。

まずSPの各クロロフィルモノマーの水素原子以外の原子を固定しHF/6-31G(d)レベルで構造最適化を行った。その構造を用いて真空のSPの一価カチオン状態の電子状態を6-31G(d)(0.25)基底を用い計算した。光照射下で決定された構造を用いた計算結果の解析から、スピン密度存在比はL:M=59:41であった。現在SP近傍のアミノ酸を考慮することでこの比がどのように変化するか検討中である。

H.Yamasaki, Y.Takano, H.Nakamura: A theoretical study of the primary charge-separation process in the photosynthetic reaction center

3P279

極低温1超分子観測による光合成アンテナ超分子複合体クロロゾーム内のバクテリオクロロフィルc分子数の見積り

○柴田 穰¹、佐賀 佳央²、民秋 均³ (¹名大院・理、²近大・理工、³立命館大・理工)

クロロゾームは、長軸が数百nm・短軸が数十nmの楕円体に、10~30nmの厚みをもった扁平卵状で、緑色光合成細菌の光捕集器官(光合成アンテナ)として機能する。その構造は非常にユニークで、バクテリオクロロフィルc(BChl-c)を主要構成要素とする色素分子の自己会合体が、脂質一重膜に包まれていると考えられている。BChl-c会合体の形成にタンパク質の寄与はなく、色素分子が持つ自己集積化能が構造形成の主要因であるとされている。20年以上前から電子顕微鏡等によりその内部構造が調べられており、BChl-c会合体が棒状のロッドと呼ばれる規則正しい構造を取っていると予想されている。しかし、クロロゾームの内部構造は未だはっきりと確定されておらず、BChl-c以外にも多く含まれるカロテノイドやキノン等の分子の位置も未確定である。一つのクロロゾーム中にあるBChl-c分子の数、といった基本的な量も現状では確定されていない。我々は最近、共焦点顕微鏡を用いて単一のクロロゾームの極低温蛍光スペクトルを観測することに成功した。共焦点顕微鏡の高いZ軸方向の分解能を利用することで、基板へ複合体を吸着させる操作なしに、溶液中に浮遊したより自然な状態で1複合体観察が可能となった。この方法により、単位体積中にあるクロロゾームの数を勘定できる。単位体積中のクロロゾーム数と、試料溶液の色素濃度の値から、単一複合体内の色素分子数を見積もられる。講演では、*Chlorobium tepidum*と*Chloroflexus aurantiacus*という2種類の細菌のクロロゾームについて、この手法より見積もった複合体内の色素分子数を報告する。また、これまでに報告されているクロロゾームの大きさから予測される値や、蛍光相関分光法など他の方法により見積もられる値と比較して、より正確な値を確定する。

Y. Shibata, Y. Saga and H. Tamiaki: Estimation of the number of bacteriochlorophyll-c molecules within a chlorosome by single-apparatus observation at cryogenic temperature

3P278

緑色硫黄細菌 *Chlorobium tepidum* の光合成電子伝達経路とリンクした硫黄酸化経路○浅井 智広¹、塚谷 祐介²、伊藤 繁³、大岡 宏造¹ (¹阪大院・理・生物、²産総研・生物機能工学、³名大院・理・物理)

緑色硫黄細菌 *Chlorobium tepidum* では、光酸化を受けた光合成反応中心P840⁺は、反応中心複合体のサブユニットであるPscC (cytochrome *c*₂: cyt *c*₂)によって還元される。我々は精製膜標品を用いた閃光照射実験により、cyt *c*₂は、ペリプラズムの可溶性タンパク質であるcyt *c*-554、もしくはキノール酸化還元酵素である膜タンパク質、cyt *bc*複合体から直接、電子を受け取ることを報告している。一方、cyt *c*-554の欠失株を用いた最近の研究では、cyt *c*-554はcyt *bc*複合体から電子を受け取ることはなく、cyt *bc*複合体とは独立に機能する反応中心P840への電子供与体であることが分かってきた。恐らくcyt *c*-554は、すでに1970年代に山中らによって報告されているように、チオ硫酸(S₂O₃²⁻)酸化経路における最終電子受容体として働いているものと考えられる。また硫化物(S²⁻)は膜タンパク質であるsulfide quinone reductaseにより酸化されることから、cyt *bc*複合体は硫化物の酸化経路上で機能する電子伝達体と推測される。*Chl. tepidum*には、チオ硫酸の酸化に関与する遺伝子群クラスター(*sox* gene cluster)の存在がゲノム解析から明らかとなっているが、個々の遺伝子の機能は解析されておらず、硫黄酸化経路の全容は不明のままである。そこで本研究では、光合成電子伝達経路が硫黄酸化経路とどのようにリンクしているかを明らかにしていく目的で、sulfate thiol esteraseをコードしていると考えられる*soxB*遺伝子(CT1021)の欠失株、およびcyt *c*-554と*soxB*の二重欠失株作成に着手した。精製膜標品を用いた閃光照射実験の結果と合わせながら光合成反応中心への電子供給経路について報告する。

C.Azai, Y.Tsukatani, S.Itoh and H.Oh-oka: Sulfur oxidation pathways linked with photosynthetic electron transfer pathway in the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*.

3P280

Bacteriochlorophyll cのメソポーラスシリカ細孔中での組織化

○小川 真貴子¹、小田 一平³、梶野 勉²、福島 喜章²、南後守¹、柴田 穰³、伊藤 繁³ (¹名工大・物質工学、²豊田中央研究所、³名大・理・物質理学)

バクテリオクロロフィルc(BChl c)は緑色硫黄光合成細菌のもつアンテナ色素巨大集合体(chlorosome)中で会合体を形成する。この会合体中では、BChl c間の相互作用の重要性が示唆されている。我々は、メソポーラスシリカの一種であるFSM(folded-sheet mesoporous material)の微小細孔内でのBChl c会合体形成を試みた。内部に一定の孔径(2~10 nm)の細孔をもつFSM中でのBChl cの会合状態から、chlorosome中におけるBChl cの会合状態を考察した。1)異なる誘電率をもつ溶媒(acetone, benzene, 1% CH₂Cl₂/n-hexane)中にBChl cを溶解しFSMを加えた。約15%(wt/wt)のBChl cがFSM中に導入できた。2)Benzeneと、1%CH₂Cl₂/n-hexane中で、BChl cをFSMに吸着させると、chlorosome中と似た長波長750nmに吸収帯をもつ会合状態が生じた。(Figure 1参照)3)FSM中のBChl cの短波長帯(670 nm)から長波長帯(750 nm)への高速エネルギー移動を確認した。

Figure 1. Formation of 750-nm long-wavelength Bchl c aggregate band in Bchl c-FSM conjugate. Thin lines, Bchl c in different organic solvents. Thick lines, Bchl c-FSM conjugates suspended in water. Each Bchl c-FSM conjugate was formed in organic solvent with a different specific inductive capacity.

M. Ogawa, I. Oda, T. Kajino, Y. Fukushima, M. Nango, Y. Shibata, S. Itoh: Nanoscale organization of Bacteriochlorophyll c in mesoporous silica