トピックス

人工色素の付加による光合成アンテナ色素タンパク質複合体(LH2)の光捕集機能の拡張

出羽毅久 名古屋工業大学大学院工学研究科生命・応用化学専攻
長澤 裕 立命館大学生命科学部応用化学科

1. はじめに

光合成生物は多様な光捕集系を発達させ、生育環境に合わせてその機能を巧みに調節している。タンパク質中に組み込まれた多種の光合成色素は幅広い波長領域の太陽光を吸収し、弱光下においても効率よく光エネルギーを物質変換に利用している¹⁾。逆に強光下では過剰な光エネルギーを熱として放出することにより光保護機能の役割を同時に担っている。「人工光合成」の観点からは、希薄な太陽光エネルギーを多電子移動反応による物質変換に利用するために、高効率な光捕集系の設計が重要となっている²⁾。幅広い波長領域の光子を吸収し、超高速で駆動する励起エネルギー移動・電子移動系の構築は重要課題のひとつである。この点で光合成の光捕集系に習うところが大きい。我々は紅色光合成細菌のアンテナ色素タンパク質複合体(Light-Harvesting Complex 2: 以下 LH2) に人工色素を付加することにより、「吸収波長領域の拡張」と「超高速エネルギー移動」による光捕集機能の拡張に成功した³⁾。

2. アンテナ色素タンパク質複合体(Light-Harvesting Complex 2: LH2) と人工色素 Alexa647 の付加

図 1A に紅色光合成細菌 *Rhodospseudomonas (Rps.) acidophila* 10050 由来の LH2 の構造を示す⁴⁾。光合成色素としてバクテリオクロフィル *a* (BChl *a*) とカロテノイド (Car) が二種類の膜貫通型ポリペプチド (LH2 α , LH2 β) に結合し、特徴的な 9 回対称のリング構造を形成している。BChl *a* は吸収波長の異なる二種類の分子集団を形成し、その極大吸収波長から B850 と B800 と呼ばれる。B800 で吸収された励起エネルギーは約 700 fs で B850 にエネルギー移動する。Car により吸収された可視領域の光も B800 および B850 にエネルギー移動し、LH2 内で B850 に励起エネルギーが集められる。B850 に集められた励起エネルギーは、光合成膜

中で隣接する LH2 の B850 間を約 10 ps で移動し、最終的にコアアンテナ反応中心複合体 (LH1-RC) に集められ、ほぼ 100% の効率で電荷分離に用いられる^{1), 5)}。

図 1 (A) 紅色光合成細菌 (*Rps. acidophila* 10050) 由来 LH2 の結晶構造 (1NKZ) と (B) LH2 の吸収 (黒実線), Alexa647 の吸収 (青実線)・蛍光 (赤破線), 太陽光スペクトル (黒破線)。

Extension of Light-Harvesting Ability of Photosynthetic Light-Harvesting Complex 2 (LH2) by Conjugation of Artificial Chromophores
Takehisa DEWA¹ and Yutaka NAGASAWA²

¹Department of Life Science and Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology

²Department of Applied Chemistry, College of Life Science, Ritsumeikan University

このように多数の色素を利用する光捕集戦略で重要なことは、ドナーとアクセプター色素間で高い効率でエネルギー移動を起こすことである。

LH2 の吸収スペクトル (図 1B) は BChl *a* と Car からなり、620-750 nm (橙-赤) の波長領域の吸光度は非常に低い。この波長領域に吸収・蛍光帯を有する色素を付加することにより、LH2 の吸収波長領域を拡張することを試みた。色素は蛍光ラベル化試薬として市販されている Alexa Fluor647 (以下 Alexa647) を用いた。Alexa647 の吸収・蛍光スペクトルを図 1B に示す。蛍光帯の長波長端で B800 と B850 のエキシトンバンドと重なりを有する。LH2 と Alexa647 との結合は下記のように行った。LH2 ポリペプチド中の Lys 側鎖に二官能性試薬 Sulfo-LC-SPDP を作用させ、SH 基を付加し、そこに Alexa647 のマレイミド基を反応させた。Alexa647 の結合数は 1 個の LH2 に対し 9 個で、9 個の LH2 α/β サブユニットに対し 1 個ずつ Alexa647 が結合している。Alexa647 の修飾により、LH2 の吸収スペクトルに変化がないことから、化学修飾により LH2 固有の BChl *a* と Car に影響はないことがわかった。タンデムマスマスペクトロメトリ (MS/MS) による詳細な解析から、Alexa647 の修飾位置は LH2 α ポリペプチド鎖の K5 と K51 (または K50) であることがわかった。これらの結合位置を図 1A に示す (図中 K5(α) と K51(α))。これらの結合位置はそれぞれ B800 と B850 に近接する位置であり、それぞれ特徴的なエネルギー移動経路をとることになる (後述)。

3. | Alexa647 から B800/B850 への超高速エネルギー移動

定常蛍光計測から、Alexa647 の励起 (650 nm) により B850 の顕著な発光が認められ、エネルギー移動効率は約 90% と見積もられた。詳細なエネルギー移動ダイナミクスを検討するために、フェムト秒過渡吸収分光を行った。まず、Alexa647 結合体に対し、Car 励起や B800 選択励起によるエネルギー移動を調べたところ、LH2 内のエネルギー移動の時定数は全く変化していないことから、Alexa647 付加により内部のエネルギー移動機構は完全に保存されていることがわかった。励起直後には、Alexa647 の励起状態の過渡吸収、基底状態の退色 (ブリーチ) と誘導放出による 657 nm のネガティブバンドが現れ、その後、これらの信号は減衰し、代わりに B850 の過渡吸収、ブリーチと誘導放出が 840 nm 付近に現れ、サブピコ秒から数十ピコ秒の時間領域で Alexa647 から B850 へのエネルギー移動が起こっていることがわかった (図 2)。興味深いことに、500 fs で B800 のネガティブバンドが現れ (図

図 2

Alexa647 結合体 (LH2-Alexa647) の 650 nm 励起によるフェムト秒過渡吸収スペクトル。

中*)、Alexa647 から B800 経由でエネルギー移動する経路の存在が示唆された。

さらに詳細な速度解析 (グローバル解析、再構成スペクトル⁶⁾) の結果、図 3 に示すエネルギー移動の時定数と寄与割合を得た。Alexa647 から B800 への移動は 440 fs (6%) と 4.3 ps (34%) の速い時定数で起こる。B800 からは LH2 固有の超高速チャネルにより 700 fs で B850 にエネルギー移動する。また、Alexa647 から B850 へ 23 ps (50%) の時定数で直接エネルギー移動していることもわかった。Alexa647 の修飾位置が B800 側 K5(α) と B850 側 K51(α) の 2 カ所あることから、B800 と B850 へは近接する Alexa647 がドナーとなっていると考えられる。Förster 型のエネルギー移動機構を考慮すると、440 fs と 4.3 ps の速い時定数は B800 の中心からそれぞれ 11 Å, 16 Å の距離に Alexa647 が存在すると予測され、K5(α) に結合した Alexa647 が妥当であると結論づけられた。一方 23 ps の時定数に対しては、B850 から 27 Å の距離にあると見積もられ、この場合は K5(α) と K51(α) の両方が関与する可能性がある。また、Alexa647 の自然寿命に相当する 1.2 ns の成分が 10% あり、エネルギー移動に関

図3 エネルギー移動ダイアグラム。励起状態の Alexa647 から複数の経路で B850 に励起エネルギーが伝達される。

与しない Alexa647 が存在していることもわかった。

図3中にエネルギー移動の模式図を示した。

これらのことから、シンプルに蛍光色素を天然の光合成アンテナに結合させることにより、吸収波長を拡張し、天然のアンテナ系と同様の超高速領域でのエネルギー移動が達成できることが明らかとなった。いくつかの速度成分が現れることは、Alexa647の状態が均一ではないことを示しており、今後はドナーアクセプター距離および配向を制御するアプローチが必要である。

4. まとめ

本トピックスでは、光合成アンテナの機能拡張が人工色素の付加という非常にシンプルな手法で達成でき、そのダイナミクスの詳細を明らかにすることにより、新たな光機能性バイオハイブリッド体の創製に貢献することを示した。このコンセプトは光化学系I複合体(PSI)にローダミンを付加した渡辺らによる先駆的な研究により示されている⁷⁾。その後、アメリカを中心とするグループにより反応中心複合体(RC)⁸⁾や再構成コアアンテナ(LH1)⁹⁾を用いた研究へとつながっている。どのような戦略でドナーアクセプター系を設

計するか、今後の課題である。

最後に、本研究の遂行にあたり共同研究者各位とJST さきがけ「光エネルギーと物質変換」領域、新学術領域「高次複合光応答」のサポートに感謝いたします。

文 献

- Blankenship, R. E. (2014) Molecular Mechanisms of Photosynthesis, Wiley Blackwell.
- 石谷 治ら編著 (2015) 人工光合成 光エネルギーによる物質変換の化学, 三共出版, 東京.
- Yoneda, Y. *et al.* (2015) J. Am. Chem. Soc. **137**, 13121-13129. DOI: 10.1021/jacs.5b08508.
- McDermott, G. *et al.* (1995) Nature **374**, 517-521. DOI: 10.1038/374517a0.
- Mirkovic, T. *et al.* (2017) Chem. Rev. **117**, 249-293. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00002.
- Ishibashi, Y. *et al.* (2014) J. Phys. Chem. C **118**, 9419-9428. DOI: 10.1021/jp502734u.
- Nakamura, A. *et al.* (2005) Chem. Lett. **34**, 1472-1473. DOI: 10.1246/cl.2005.1472.
- Dutta, P. K. *et al.* (2014) J. Am. Chem. Soc. **136**, 4599-4604. DOI: 10.1021/ja411843k.
- Springer, J. W. *et al.* (2012) J. Am. Chem. Soc. **134**, 4589-4599. DOI: 10.1021/ja207390y.

出羽毅久

出羽毅久 (でわ たけひさ)

名古屋工業大学大学院工学研究科生命・応用化学専攻共同ナノメディシン科学専攻教授
1994年東京工業大学大学院理工学研究科修了, 博士(工学)。Lehigh大学博士研究員, 科学技術振興機構CREST研究員, 名古屋工業大学助手, 講師, 准教授を経て2016年より現職。
研究内容: 生体分子集合系の科学とその応用
連絡先: 〒466-8555 愛知県名古屋市昭和区御器所町

E-mail: takedewa@nitech.ac.jp

URL: <http://www.ach.nitech.ac.jp/~polymer/ydk/dewakondo.html>

長澤 裕

長澤 裕 (ながさわ ゆたか)

立命館大学生命科学部応用化学学科教授
1994年総合研究大学院大学数物科学研究科修了, 博士(理学)。日本学術振興会特別研究員(DC1), 分子科学研究所特別研究員, 日本学術振興会海外特別研究員, シカゴ大学化学科博士研究員, 大阪大学大学院基礎工学研究科助手, 助教授, 准教授を経て2015年より現職。

研究内容: 超高速分光による分子ダイナミクスの観測

連絡先: 〒525-8577 滋賀県草津市野路東 1-1-1

E-mail: ynagasa@fc.ritsumeai.ac.jp

URL: <http://www.ritsumeai.ac.jp/lifescience/achem/laserpc/>