

研究課題：光合成アンテナの単一超分子レベルでのスペクトル測定と解析

立命館大学総合理工学研究機構 佐賀 佳央

〒525-8577 滋賀県草津市野路東1-1-1

Tel: 077-566-1111(内線8462)

E-mail: saga@se.ritsumeai.ac.jp

1. 研究目的

緑色光合成細菌はクロロゾームといわれる集光アンテナ組織が存在する。クロロゾームでは、脂質一分子膜に囲まれた内部でバクテリオクロロフィル(BChl)-c分子が自己会合してロッド状のナノ構造体を形成し、エネルギー捕集と伝達を行っていると考えられている (Fig. 1)。クロロゾーム内の集光色素自己集合体による効率的な光エネルギー捕集・伝達機構の解明は、光合成の基礎研究のみならず光エネルギー変換の研究分野にも大きなインパクトを与えることが期待できる。しかし現在のところ、クロロゾーム内のロッド状ナノ構造体のエネルギーレベルや励起子の局在状態、およびそれらの間のエネルギー伝達機構は明らかではない。

これまでの分光学的研究から得られる情報は、多数のユニットからのスペクトル成分が混ざり平均化されている。したがって、単一のクロロゾーム内にどのようなエネルギーレベルが存在し、どのようにエネルギーが伝達されているかを明らかにすることが困難だと考えられる。

そこで本研究では、クロロゾームの単一超分子レベルでの可視化と蛍光スペクトル測定を試みた。得られたスペクトルを解析し、個々のクロロゾームの不均一性に関する情報を得ることを目的とした。さらに、他ユニットからのスペクトル情報を分離することによって、多数ユニットの不均一性に埋もれていた、クロロゾーム本来のエネルギー状態の解明を目指した。

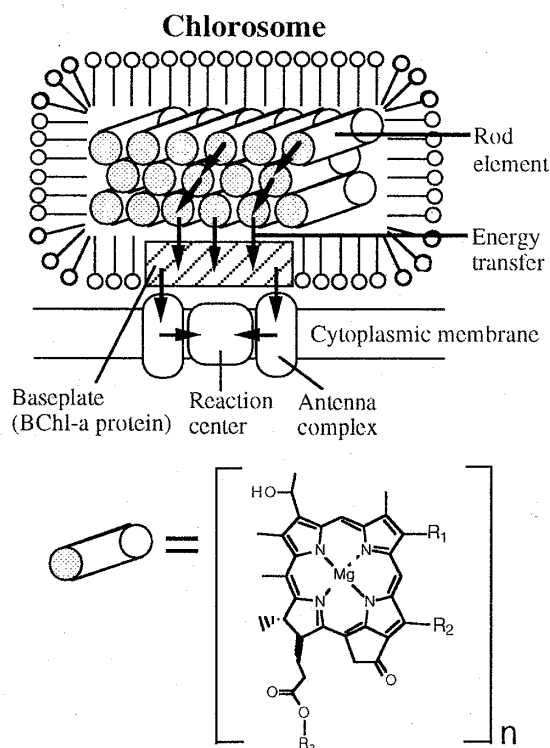


Fig. 1 クロロゾームの模式図

2. 研究成果の概要

2.1 クロロゾームの単一ユニットレベルでの可視化

緑色系状光合成細菌 *Chloroflexus* (*Cfl.*) *aurantiacus* から単離したクロロゾームを緩衝液で希釈し、その少量を一定時間基板にのせた後に緩衝液で丁寧に洗うことでクロロゾームの固定化を行った。固定化したクロロゾームは近接場光学顕微鏡と原子間力顕微鏡によって可視化した。近接場光学顕微鏡による観察では、エバネッセント励起によって個々のクロロゾームからの蛍光と考えられる輝点が観測された (Fig. 2)。個々の輝点は他の輝点や背景と明確に区別することができた。原子間力顕微鏡による観察 (Fig. 3) では、クロロゾームと考えられる楕円形様でサブマイクロメートルオーダーの粒子が基板上に単独に存在していることが明らかとなり、近接場光学顕微鏡観察での個々の輝点が確かに単一クロロゾームに由来することを確認した。従来の研究で、観測されている蛍光が単一（超）分子に由来することを直接証明した例はあまりなく、本研究の結果は非常に意義深いと考えられる。

単一クロロゾームの蛍光は約1分以内に緩やかに退色する傾向がみられた。この退色過程は単一色素にみられる一段階での退色と異なっていた。このような退色過程から、クロロゾーム内では励起子がBChl-*c*会合体全体に非局在化しているわけではない可能性が示唆された。

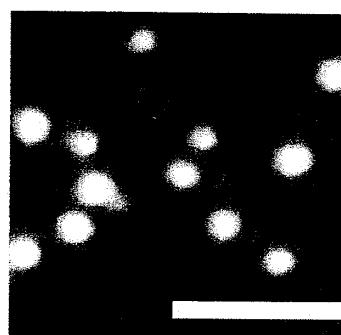


Fig.2 石英基板に吸着させた単一クロロゾームの近接場光学顕微鏡による観察. Bar, 5 μ m.

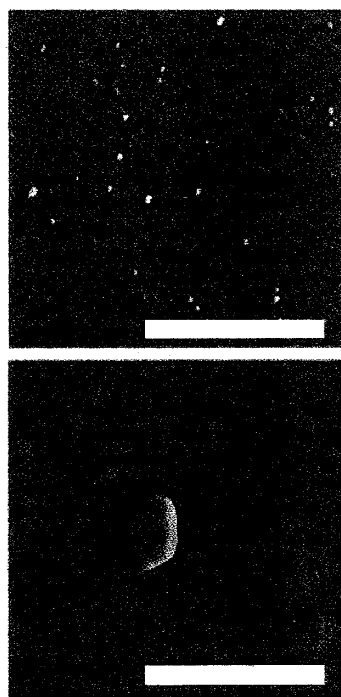


Fig. 3 石英基板に吸着させた単一クロロゾームの原子間力顕微鏡による観察. Bar, (A) 5 μ m, (B) 500 nm.

2.2 クロロゾームの単一ユニットレベルでの蛍光スペクトル測定と解析

前節の方法で固定化した単一クロロゾームからの蛍光を波長成分に分解することで、単一クロロゾームからの蛍光スペクトル測定に初めて成功した。*Cfl. aurantiacus*由来のクロロゾームはすべて750 nm付近にBChl-*c*からの発光が観測された (Fig. 4)。すべての単一クロロゾームのBChl-*c*からの蛍光は、そのピーク位置とバンド幅はほとんど変わらず、個々の*Cfl.*クロロゾームのスペクトルの不均一性はあまりないことを明らかにした。

*Cfl. aurantiacus*のクロロゾームには3位の立体異性が異なったBChl-*c*光学異性体が存在するが、この立体異性はBChl-*c*自己会合体のスペクトル特性の不均一性を誘起しない。これは、個々のクロロゾームにおける色素組成の均一性、またはクロロゾーム内のBChl-*c*光学異性体が完全に混合した均一な超分子構造の形成を示唆する。

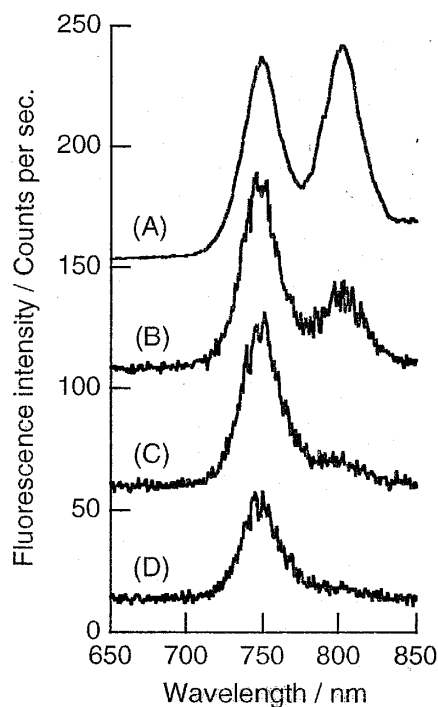


Fig. 4 通常のクロロゾームの蛍光スペクトル(A)と単一クロロゾームの蛍光スペクトル(B)-(D).

謝辞

本研究は財団法人新世代研究所の研究助成により推進されました。深く感謝いたします。

3. 研究発表

3.1 学術論文

[1] Y. Saga, T. Wazawa, T. Nakada, Y. Ishii, T. Yanagida, H. Tamiaki

Fluorescence Emission Spectroscopy of Single Light-Harvesting Complex from Green Filamentous Photosynthetic Bacteria

Submitted.

3.2 国際会議報告

[1] Y. Saga, T. Wazawa, T. Nakada, Y. Ishii, T. Yanagida, H. Tamiaki

Fluorescence Emission Spectroscopy of Single Light Harvesting Complex From Green Photosynthetic Bacteria

12th International Congress on Photosynthesis (2001.8) S1-023, オーストラリア・ブリスベン.

[2] H. Tamiaki, Y. Saga, T. Wazawa, T. Nakada, Y. Ishii, T. Yanagida

Spectroscopy of Single Chlorosome from Green Bacteria

Light-Harvesting 2001: A Pre-12th International Photosynthesis Congress Meeting (2001.8) オーストラリア・ゴールドコースト.

3.3 国内学会発表

[1] 佐賀佳央、和沢鉄一、中田俊隆、石井由晴、柳田敏雄、民秋均

緑色光合成細菌集光アンテナの単一ユニットレベルでの可視化と蛍光スペクトル測定

第3回生命化学研究会シンポジウム (2001.1) P11, 神戸.

[2] 佐賀佳央、和沢鉄一、中田俊隆、溝口正、石井由晴、柳田敏雄、民秋均

単一クロロゾームの蛍光スペクトル測定

光合成細菌の色素系と反応中心に関するセミナー IX (2001.6), 東京.