

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 11 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K05940

研究課題名(和文) 光合成超分子複合体のエネルギー受容型膜タンパク質を両親媒性合成色素に置換する

研究課題名(英文) Substitution of the energy-accepting membranous protein with amphiphilic synthetic pigments in photosynthetic supramolecular complexes

研究代表者

佐賀 佳央 (Saga, Yoshitaka)

近畿大学・理工学部・教授

研究者番号：60411576

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：光合成システムにおける異種の色素集積超分子の間でのエネルギー移動の理解は、光生命化学の重要課題である。そこで本研究では、緑色光合成細菌の光捕集システム・クロロゾームにおける内部の色素自己集積体から表面の色素結合膜タンパク質へのエネルギー移動を主なターゲットとした研究を推進した。クロロゾーム表面のエネルギー受容型膜タンパク質を両親媒性の合成色素に置換することに成功し、クロロゾーム内部の色素自己集積体で吸収した光エネルギーを、超分子間励起エネルギー移動によってクロロゾーム膜の合成色素に集約させることが可能なことを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光合成超分子の間の緻密な連携とそれに基づいた高機能発現の機構解明は、光合成をシステムとして理解するうえで重要である。本研究での、異種の色素複合超分子で構成される系のエネルギードナーとアクセプターの関係性の積極的な変化は、このような課題への新たなアプローチとして学術的意義がある。また、分子生物学的方法論では困難であった膜タンパク質部分の改変を、両親媒性合成分子への置換によって克服できる可能性を本研究で示したことも学術的に有意義であるとともに、生体膜工学としての応用展開も期待でき社会的意義があると思われる。

研究成果の概要(英文)：Understanding of the energy transfer mechanisms among supramolecules in photosynthetic systems is important in the research area of photobiology and developments of artificial light-conversion systems. From these viewpoints, we focused on major light-harvesting supramolecular systems called chlorosomes from green photosynthetic bacteria. In chlorosomes, excitation energy captured by bacteriochlorophyll self-aggregates inside is transferred to the pigment-binding membranous protein on the surface with a high efficiency. We successfully substituted the energy-accepting membranous protein with amphiphilic synthetic pigments in chlorosomes. We analyzed excitation energy transfer from natural bacteriochlorophyll self-aggregates inside the chlorosome to synthetic amphiphilic pigments that were localized close to the chlorosomal membrane.

研究分野：生体関連化学

キーワード：光合成 クロロゾーム クロロフィル バクテリオクロロフィル 励起エネルギー移動

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

光合成初期過程における高効率の光エネルギー捕集・伝達機構の解明は光生命科学分野の重要課題である。この光エネルギー捕集と伝達の高効率性の要因は大きく2種類あると考えられる。ひとつは、光合成初期過程に関与するシステムに参加する色素複合超分子そのものの高い光機能性であり、もうひとつは、これらの光合成システムにおける色素複合超分子の間での緻密な連携である。現在、色素複合超分子そのものに関する理解は進んでいるのに対して、光合成システムのなかで異種の色素複合超分子がどのように構造的・機能的に連携し、システムとしての効率化を達成しているのか、という超分子間の連携に関する要因は解明が遅れている。したがって、光合成色素複合超分子間の関係性の理解は、単独の超分子レベルでの構造・機能の解明が進んだ現状における最重要課題のひとつと位置付けられる。

そこで本研究では、異種の色素複合超分子の間の励起エネルギー移動を理解するための光合成システムとして、緑色光合成細菌の光捕集アンテナ系であるクロロゾームに着目した。クロロゾームでは、脂質膜で囲まれた内部に存在するバクテリオクロフィル色素自己会合体で吸収された光エネルギーが、表面の脂質膜で2次元結晶状態で存在する膜タンパク質(ベースプレートタンパク質と呼ばれる、色素とポリペプチドの複合体)に集約された後に、外部に伝達される(図1)。このような異種の色素複合超分子が連携したシーケンシャルな超分子間エネルギー移動は光合成システムの高効率化の機構を理解するうえで適した系であると考えられる。クロロゾーム内部の色素会合体と表面の膜タンパク質の間の機能的な接続状態を理解するためには、エネルギーアクセプターとして機能する表面の膜タンパク質の改変が必要であると考えられる。しかし、クロロゾーム表面部位の膜タンパク質の改変は緑色光合成細菌の生育に極めて重大な影響を及ぼす場合があるため、

分子生物学的的方法論の適用が困難である。したがって、他の方法論でエネルギーアクセプターとして機能するクロロゾーム表面の色素結合膜タンパク質を人為的に改変し励起エネルギー移動を解析することが、クロロゾームにおける異種の色素複合超分子の間の励起エネルギー移動機構の解明を目指すうえでの鍵となると考えられる。

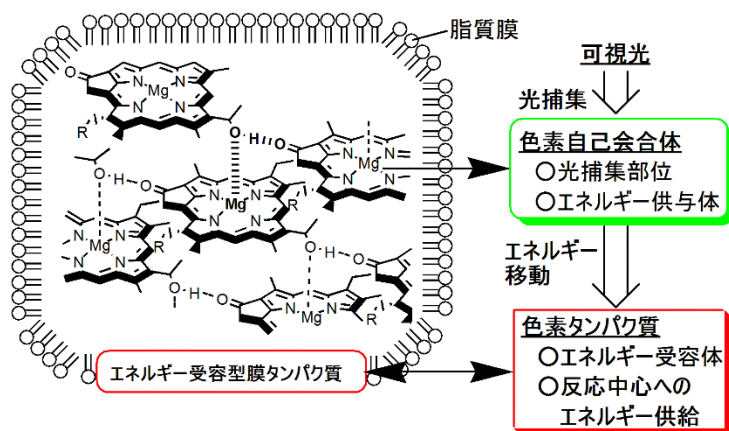


図1. 緑色硫黄光合成細菌の光捕集超分子複合体・クロロゾームの模式図.

### 2. 研究の目的

上記のような背景から、クロロゾーム系の超分子間エネルギー移動機構の理解を深めるためには、クロロゾーム表面の色素タンパク質を改変し機能への影響を調べることが重要であり、そのためには新しいアプローチが必要である。そこで本研究では、クロロゾーム表面に局在するような両親媒性色素分子を合成し、表面のエネルギー受容型膜タンパク質と置換することで得られた改変クロロゾームの機能解析を行うことで、光合成システムにおける超分子間エネルギー移動に重要な要因を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

クロロゾーム膜面に局在させることを指向した複数種の両親媒性色素分子を、ラン藻から単離した天然クロロフィル *a* と紅色光合成細菌から単離した天然バクテリオクロロフィル *a* を原料として合成した。これらの合成において、両親媒性を付与するために (バクテリオ) クロロフィル *a* 誘導体の 17 位のエステル鎖部分にポリオキシエチレン鎖を導入した。また、培養した緑色硫黄光合成細菌から常法に従ってクロロゾームを単離精製した。得られたクロロゾームをアルカリ条件でインキュベートすることによって、クロロゾーム膜面のエネルギー受容型膜タンパク質を選択的に除去した。これらのエネルギー受容型膜タンパク質を除去したクロロゾームを、合成した両親媒性色素分子と条件を検討しながらインキュベーションしたのちに、精製を行った。得られた両親媒性色素複合化クロロゾームの色素集積構造と光機能の解析を各種分光法で行った。

### 4. 研究成果

クロロゾーム膜面に局在させるために両親媒性化したクロロフィル誘導体やバクテリオクロロフィル誘導体を合成した。これらの誘導体では、テトラピロール環骨格やテトラピロール環に結合する置換基を変えることで電子状態の制御を行うことができたとともに、親水性鎖の長さを変えることで両親媒性のレベルを制御できた。合成した誘導体の一例として、クロロゾーム内部のバクテリオクロロフィル自己会合体からのエネルギーアクセプターとして機能しうる両親媒性亜鉛バクテリオクロロフィル *a* 誘導体の分子構造を図2に示す。天然バクテリオクロロフィル *a* ではフィチル鎖が連結している17位に、長さの異なる親水性鎖を導入した複数種の誘導体を合成した。

複数種の緑色硫黄光合成細菌からクロロゾームを単離精製し、その表面のエネルギー受容型の色素結合膜タンパク質 (ベースプレートタンパク質) を、単離クロロゾームをアルカリ条件で処理することによって選択的に除去し、両親媒性化したクロロフィル誘導体やバクテリオクロロフィル誘導体とインキュベートする条件を確立することで複合化した。

両親媒性の亜鉛バクテリオクロロフィル *a* 誘導体 (図2) を複合化したクロロゾームでは、クロロゾーム内部の集光バクテリオクロロフィル自己会合体を選択的に励起すると、亜鉛バクテリオクロロフィル *a* 誘導体からの蛍光が観測された。励起スペクトル測定から、この亜鉛バクテリオクロロフィル *a* 誘導体の蛍光は内部の集光バクテリオクロロフィル自己会合体からの励起エネルギー移動に由来することが示された。クロロゾーム内部の集光バクテリオクロロフィルに対する導入した亜鉛バクテリオクロロフィル *a* 誘導体の比率がかなり小さいことから、内部の集光バクテリオクロロフィル自己会合体で捕集した光エネルギーを、クロロゾーム膜面の少数の分子に濃縮するシステムを構築できたことが示された。また、亜鉛バクテリオクロロフィル *a* 誘導体の親水性鎖の長さに対応してそれらの蛍光波長がシフトしたことから、親水性鎖の長さによって両親媒性のレベルを制御することで、クロロゾーム膜面での亜鉛バクテリオクロロフィル *a* 誘導体の状態を調節できる可能性が示された。また、クロロゾームへの亜鉛バクテリオク

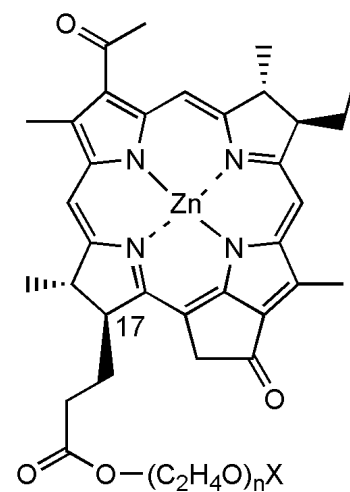


図 2. 合成した両親媒性亜鉛バクテリオクロロフィル *a* 誘導体の分子構造.  $n = 2, 4, 8.7$  (平均),  $13.3$  (平均).  $X = H$  or  $CH_3$ .

ロロフィル  $a$  誘導体の導入を行っても、内部のバクテリオクロロフィル自己会合体の組織化構造は影響を受けないことが分光測定で明らかになった。

本研究によって、異種の光合成色素複合超分子で構成される系のエネルギードナーとアクセプターの関係性を人為的に改変し機能解析を行うことに成功した。このような光合成システムの積極的な改変は、光合成システムにおける色素複合超分子の間での緻密な連携を理解するための新たなアプローチとして学術的意義がある。また、分子生物学的方法論では困難であった膜タンパク質の機能改変を、両親媒性合成分子への置換によって克服できる可能性を本研究で示したことは学術的にも有益と考えられるとともに、生体膜工学としての応用展開も期待できることから、社会的意義があると思われる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Saga Yoshitaka, Yamashita Madoka, Imanishi Michie, Kimura Yukihiro, Masaoka Yuto, Hidaka Tsubasa, Nagasawa Yutaka	4. 巻 5
2. 論文標題 Reconstitution of 3-Acetyl Chlorophyll a into Light-Harvesting Complex 2 from the Purple Photosynthetic Bacterium <i>Phaeospirillum molischianum</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 6817 ~ 6825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.0c00152	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Saga Yoshitaka, Nakagawa Shiori	4. 巻 24
2. 論文標題 Structural effects on epimerization of bacteriochlorophyll a and chlorophyll a revealed using 3-acetyl chlorophyll a	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Porphyrins and Phthalocyanines	6. 最初と最後の頁 499 ~ 504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1142/S1088424620500054	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 -
1. 著者名 Saga Yoshitaka, Yamashita Madoka, Nakagawa Shiori	4. 巻 48
2. 論文標題 In situ Conversion of Chlorophyll b Reconstituted into Photosynthetic Protein LH2	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1270 ~ 1273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.190545	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 -
1. 著者名 Saga Yoshitaka, Kawano Kiyoshiro, Otsuka Yuji, Imanishi Michie, Kimura Yukihiro, Matsui Sayaka, Asakawa Hitoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Selective oxidation of B800 bacteriochlorophyll a in photosynthetic light-harvesting protein LH2	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3636
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-40082-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saga Yoshitaka, Yamashita Madoka, Imanishi Michie, Kimura Yukihiro	4. 巻 47
2. 論文標題 Reconstitution of Chlorophyll d into the Bacterial Photosynthetic Light-harvesting Protein LH2	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1071 ~ 1074
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.180483	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 -

1. 著者名 Saga Yoshitaka, Miyagi Kanji	4. 巻 94
2. 論文標題 Characterization of 3-Acetyl Chlorophyll a and 3-Acetyl Protochlorophyll a Accommodated in the B800 Binding Sites of Photosynthetic Light-Harvesting Complex 2 in the Purple Photosynthetic Bacterium Rhodoblastus acidophilus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Photochemistry and Photobiology	6. 最初と最後の頁 698 ~ 704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/php.12919	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 -

1. 著者名 Saga Yoshitaka, Hirota Keiya, Matsui Sayaka, Asakawa Hitoshi, Ishikita Hiroshi, Saito Keisuke	4. 巻 57
2. 論文標題 Selective Removal of B800 Bacteriochlorophyll a from Light-Harvesting Complex 2 of the Purple Photosynthetic Bacterium Phaeospirillum molischianum	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 3075 ~ 3083
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.8b00259	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 -

1. 著者名 Saga Yoshitaka, Takahashi Naoya, Miyatake Tomohiro, Tamiaki Hitoshi	4. 巻 353
2. 論文標題 Amphiphilic zinc bacteriochlorophyll a derivatives that function as artificial energy acceptors in photosynthetic antenna complexes chlorosomes of the green sulfur photosynthetic bacterium Chlorobaculum limnaeum	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry	6. 最初と最後の頁 612 ~ 617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotochem.2017.08.001	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 -

1. 著者名 Saga Yoshitaka, Amari Kenta, Miyagi Kanji	4. 巻 353
2. 論文標題 Insertion of chlorophyll a derivatives into the binding sites of B800 bacteriochlorophyll a in light-harvesting complex 2 from the purple photosynthetic bacterium Rhodoblastus acidophilus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry	6. 最初と最後の頁 591 ~ 596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotochem.2017.07.039	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 -

1. 著者名 佐賀佳央	4. 巻 48
2. 論文標題 光合成タンパク質からの色素脱離を基盤とした機能化	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 光化学	6. 最初と最後の頁 166 ~ 169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 佐賀佳央、山下隼人、小林巧
2. 発表標題 緑色光合成細菌の光捕集アンテナ複合体のエネルギー受容膜タンパク質の人工分子による置換・修飾
3. 学会等名 2019年光化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川支央里、佐賀佳央
2. 発表標題 3-アセチルクロロフィルaを利用したバクテリオクロロフィルaとクロロフィルaのエピマー化の反応性に対する構造要因の解明
3. 学会等名 第27回光合成セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐賀佳央、山下隼人
2. 発表標題 両親媒性クロロフィル誘導体を用いた緑色硫黄光合成細菌のクロロゾームの光捕集機能改変
3. 学会等名 第10回日本光合成学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川支央里、佐賀佳央
2. 発表標題 バクテリオクロロフィルaとクロロフィルaのエピマー化反応に対する分子構造の影響の解析
3. 学会等名 第10回日本光合成学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakagawa Shiori, Saga Yoshitaka
2. 発表標題 Comparison of Epimerization Kinetics among Bacteriochlorophyll a, Chlorophyll a, and 3-Acetyl Chlorophyll a
3. 学会等名 15th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 緑色光合成細菌の光捕集超分子複合体・クロロゾームと合成亜鉛クロロフィル誘導体の複合化
2. 発表標題 佐賀佳央、山下隼人
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 山下眞花、佐賀佳央
2. 発表標題 紅色光合成細菌Phaeospirillum molischianumのLH2タンパク質のB800部位への3-アセチルククロフィルaの再構成
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山下眞花、佐賀佳央
2. 発表標題 紅色光合成細菌のLH2タンパク質のB800部位へ導入したクロロフィル色素の分光特性
3. 学会等名 2018年光化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山下眞花・大塚悠史・川野聖志朗・今西三千絵・木村行宏・佐賀佳央
2. 発表標題 LH2タンパク質のB800バクテリオクロロフィルaのクロリン環色素への置換
3. 学会等名 第26回光合成セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Y. Saga, S. Nakagawa, K. Miyagi
2. 発表標題 Preparation of Isomers of Bacteriochlorophyll a Derivatives for Investigation of Their Structural Effects on Reconstitution into LH2 Protein from the Purple Photosynthetic Bacterium Rhodoblastus acidophilus
3. 学会等名 14th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 M. Yamashita, Y. Saga
2. 発表標題 Reconstitution of Chlorophyll Derivatives into the LH2 Protein from the Purple Photosynthetic Bacterium <i>Rhodoblastus acidophilus</i>
3. 学会等名 14th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐賀佳央、福田吉隆
2. 発表標題 Regulation of the Occupancy of B800 Bacteriochlorophyll a in Light-harvesting Complex 2 from a Purple Photosynthetic Bacterium <i>Rhodoblastus acidophilus</i>
3. 学会等名 13th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐賀佳央、廣田圭耶
2. 発表標題 Comparison of the Qy Absorption Bands of Bacteriochlorophyll a in LH2 Proteins Derived from Three Purple Photosynthetic Bacteria, <i>Rhodoblastus acidophilus</i> , <i>Phaeospirillum molischianum</i> , and <i>Rhodobacter sphaeroides</i>
3. 学会等名 13th International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐賀佳央、廣田圭耶、宮城貫志、淺川雅
2. 発表標題 Spectroscopic and Structural features of the Light-Harvesting Complexes 2 in Purple Photosynthetic Bacteria Induced by Removal of B800 Bacteriochlorophyll a
3. 学会等名 13th International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors of Photosynthetic Organisms (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山下隼人、高橋直哉、原田二郎、民秋均、佐賀佳央
2. 発表標題 Hybridization of Amphiphilic Zinc Chlorophyll Derivatives with Light-harvesting Complexes Chlorosomes in Green Sulfur Photosynthetic Bacteria
3. 学会等名 The Second International Symposium on Biofunctional Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐賀佳央、吉田望見、山田翔大、溝口正、民秋均
2. 発表標題 緑色硫黄光合成細菌の脂質生合成反応を利用したクロロゾームの糖脂質の脂肪酸部位の細胞内改変
3. 学会等名 第8回日本光合成学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐賀佳央、甘利健太、宮城貫志、廣田圭耶、淺川雅
2. 発表標題 紅色光合成細菌の光捕集タンパク質LH2からの色素脱離によって生成した空隙群へのクロロフィル誘導体の挿入
3. 学会等名 第15回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐賀佳央、宮城貫志、甘利健太、山下眞花、廣田圭耶、淺川雅
2. 発表標題 紅色光合成細菌の光捕集タンパク質LH2の色素置換と分光特性解析
3. 学会等名 第11回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮城貴志、佐賀佳央
2. 発表標題 紅色光合成細菌の光捕集タンパク質LH2へのクロロフィル類の再構成：バクテリオクロリン環からクロリン環への変換の影響
3. 学会等名 第11回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐賀佳央、廣田圭耶、土居倅実
2. 発表標題 構造解明されている2種類の紅色光合成細菌のLH2タンパク質からのB800バクテリオクロロフィルaの脱離挙動解析
3. 学会等名 日本生物物理学会第55回年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐賀佳央
2. 発表標題 光合成タンパク質の色素集積構造を利用した機能開拓
3. 学会等名 第11回日本化学会東海支部若手研究者フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------------------------	-----------------------	----