

ピコ秒時間分解蛍光分光法によるシアノバクテリアの 強光応答に関する研究

(神戸大院・理¹, 神戸大・分子フォト², 神戸大院・工³, JST-CREST⁴)

○神戸えりな¹, 横野牧生², 藍川晋平^{3,4}, 近藤昭彦^{3,4}, 秋本誠志^{1,2,4}

【序論】 光合成生物は効率的に光エネルギーを利用するために多数のアンテナ色素を有し, 捕えたエネルギーを反応中心へと移動する. 同時に, 強光条件下で生じる過剰なエネルギーを消光し, 光障害から身を守るための光防御の仕組みをもつ.

シアノバクテリアは地球上に最も古くから存在する酸素発生源の原核光合成生物である. シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC6803はチラコイド膜内に光化学系I (PSI) と光化学系II (PSII) をもち, 膜外アンテナとしてPhycobilisome (PBS) をもつ (Fig. 1). PSIとPSIIは光合成色素としてChlorophyll (Chl) を有し, PBSはPhycocyanin (PC) とAllophycocyanin (APC) で構成される. PCを光励起すると, 励起エネルギーはAPCを経由し, Chlへと伝達される.

近年, シアノバクテリアが青色光によって駆動する独自の消光メカニズムを持つことが報告されているが [1], 詳細は明らかでない. 本研究では, 時間分解蛍光分光法を用いて色素間のエネルギー移動を観測し, シアノバクテリアの消光メカニズムを検討した.

【実験】 *Synechocystis* sp. PCC 6803細胞を暗条件に20分間置いた後, 続いて, 青色または赤色の強光 ($500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を5分間照射し液体窒素温度で凍結したものを試料とした (それぞれ, BLUE, RED). また, 暗条件に20分間置いたものを凍結し, 対照試料とした (DARK). これらの3種の試料について, 定常蛍光スペクトルおよびピコ秒時間分解蛍光スペクトルの測定を行った. 時間分解測定では, 励起波長を400 nmとし, 時間相関単一光子計数法 (時間間隔: 2.4 ps/ch) を用いた. 全波長領域の蛍光減衰曲線についてグローバル解析を行い, その結果から fluorescence decay-associated spectra (FDAS) を得た.

【結果と考察】 定常吸収・蛍光励起スペクトル 定常吸収スペクトルは光条件を設定せず, 室温で測定したものである (Fig. 2 (a)). 蛍光励起スペクトルは, 685 nm (PSII-Chl), 695 nm (PSII-Chl), 730 nm (PSI-Chl) を観測波長とし, 77 Kで測定した (Fig. 2 (b)-(d)). 蛍光励起スペクトルには, 440 nm, 625 nm, 675 nmにピークが観測され, それぞれChl, PC, APCと帰属された. これらは吸収スペクトル (Fig. 2 (a)) のピークに対応する. 観測波長によらずDARK

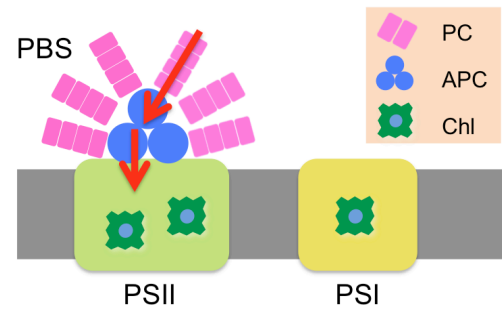


Fig. 1 チラコイド膜の模式図.

とREDではスペクトルが概ね一致しているが、BLUEではPCの吸収領域の強度が顕著に減少している。これは、青色光下でPCからChlへのエネルギー移動効率が低下することを示唆している。

時間分解蛍光スペクトル 励起直後には660 nm, 685 nm, 723 nmにピークが観測され、それぞれ、APC, PSII-Chl, PSI-Chlと帰属された (Fig. 3)。これらのピーク強度は時間とともに減少し、時間後期 (≥ 210 ps) では667 nm, 687 nm, 697 nm, 732 nmの相対強度が増加している。これは、エネルギーの高い色素から低い色素へのエネルギー移動を示している。

PBS領域 (Fig. 3 左) では、DARKとREDのスペクトルが概ね一致しているが、BLUEではAPC領域の蛍光強度が顕著に減少している。特に時間初期 (≤ 37 ps) にはその差が大きく、時間の経過にしたがい差が小さくなる。これは、早い時間領域で起こるPBS内のエネルギー移動過程が光環境による影響を受けていることを示唆する。青色強光下でAPCの蛍光強度が減少している原因として、(1) PCからAPCへのエネルギー移動効率の低下、(2) APCからquencherへのエネルギー移動効率の上昇が考えられる。

Chl領域 (Fig. 3 右) では、210-260 psでのDARK, RED, BLUEのスペクトルがほぼ一致している。これに対し、時間初期 (≤ 85 ps) ではBLUEのPSI-Chlのピーク強度が顕著に減少し、時間後期 (≥ 820 ps) ではBLUEのPSII-Chlのピーク強度が減少している。これは、青色光照射により、PSI-Chlへの速いエネルギー移動の効率が低下したこと、PSII-Chlへの遅いエネルギー移動の効率が低下したことを示唆している。

まとめ 青色強光下では、PBS内でのエネルギー移動、PBSからPSII-Chlへのエネルギー移動、PSIでのChl間エネルギー移動が変化し、APC, PSI-Chl, PSII-Chlの蛍光強度の減少として観測されたと考えられる。

【参考文献】

[1] Diana Kirilovsky, *Photosynth Res*, 93:7-16 (2007).

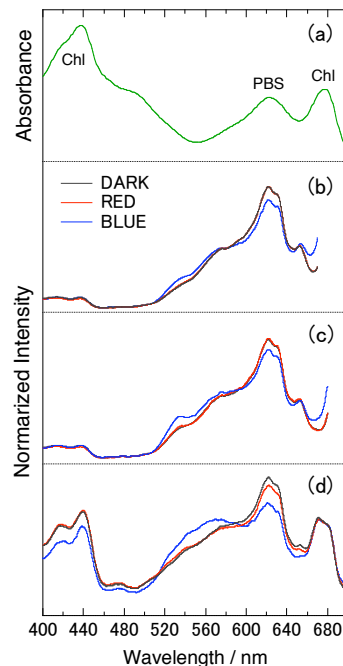


Fig. 2 (a) 定常吸収スペクトル (室温), (b)-(d) 蛍光励起スペクトル (77 K). 観測波長: (b) 685 nm, (c) 695 nm, (d) 730 nm.

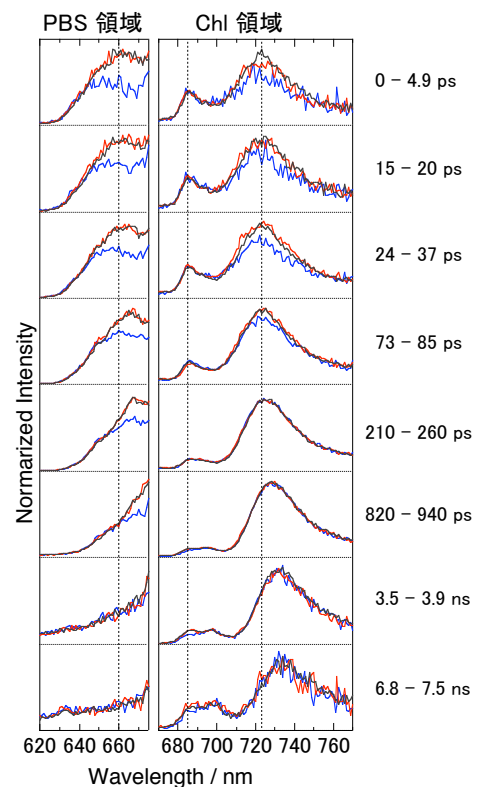


Fig. 3 時間分解蛍光スペクトル. 励起波長 400 nm, 77 K の測定.