

光環境変化に応じた光捕集タンパク質の膜内移動を 極低温顕微分光法で検出する

¹東北大学

○藤田祐輝¹, 柴田穰¹

Verification of shuttling of Light-Harvesting complexes within membrane upon light environmental change by using cryogenic confocal microscopy

○Yuki Fujita¹, Yutaka Shibata¹

¹ Department of Chemistry, The University of Tokyo, Japan

【Abstract】 Abstract in English (ca. 150 words).

Photosystem I (PSI) and Photosystem II (PSII) play central roles in the photochemical reactions in photosynthesis. A mechanism called state transition (ST) is known as a function to control the excitation balance between the PSs in vivo, which assures an efficient photosynthesis. Although it is believed that ST is caused by shuttles of light harvesting complex of PSII (LHCII) between the PSs, there has been no direct observation of its movement within a cell. Here, we examined the movement of LHCII by using a newly developed cryogenic microscope. In this microscope, it is possible to observe cells cooled down to 80 K with a high resolution objective lens. By the measurement, we could obtain the intracellular distributions of PSI, PSII, and LHCII components. From the obtained result, we could detect the movement of LHCII upon ST for the first time.

【序】

光合成は、光化学系 I(PSI)と光化学系 II(PSII)と呼ばれる二つの複合体による直列な光誘起電子伝達で駆動される。PSIはストロマラメラ、PSIIはグラナ（直径0.3~0.5 μmの円盤状）と呼ばれる膜領域に多く存在し、空間的に分かれて存在する。効率の良い光合成を行うためには、PSIIとPSIの励起バランスを保つ必要があり、そのための生体内の機構としてステート遷移と呼ばれる現象が知られている。ステート遷移は、光捕集アンテナタンパク質(LHCII)が二つの光化学系間を移動することで起こると考えられており、LHCIIがPSIIに結合する状態をステート1、PSIに結合する状態をステート2と呼ぶ(model0)[1]。しかしLHCIIの移動を観察した例はこれまでに報告されていない。本研究では、研究室で開発した極低温顕微鏡を用いてLHCII、PSII、PSIの蛍光ピークが分離可能となる80 Kにおいて、葉緑体内の光合成タンパク質の空間分布を初めて観測し、ステート遷移でのLHCIIの移動を検証することを目指した。

【方法 (実験・理論)】

細胞内の大部分が葉緑体で構成されている単細胞藻類クラミドモナスをサンプルとした。極低温顕微鏡では、80 Kに保ったサンプルを高い空間分解能をもつ対物レンズ(NA0.9、100倍、Mitutoyo)を用いて観測することができる[2]。検出器として分光器とCCDカメラを使用することにより、サンプルの各位置での蛍光スペクトルを取得できる。蛍光ビーズの測定により分解能を見積もったところ、横方向0.3 μm、光軸方向1.5 μmの分解能が得られた。

【結果・考察】

ステート1、ステート2におけるクラミドモナスの80 Kでの蛍光スペクトルを各ピクセルで取得した。ステート2でのスペクトルを5つのガウス関数の和でフィッティングしたものがFig. 1である。80 Kまで冷やすことで、スペクトルを各タンパク質の蛍光要素に分解することが可能となる。LHCII、PSII、PSIに帰属されるガウス成分の面積を各ピクセルで計算して各成分の画像を再構成した。Fig. 2は、得られたLHCIIの蛍光画像とPSII/PSIの強度比画像を示す。Fig. 2から、我々の装置により葉緑体内の膜構造を反映したPSIIとPSIの分布の違いを検出できていることが分かる。

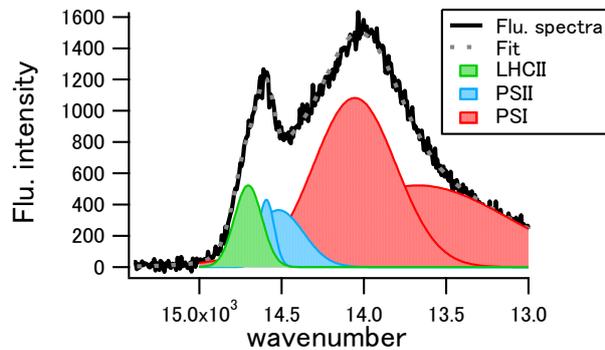


Fig. 1 Fluorescence spectrum and five Gaussian fitting result at one pixel.

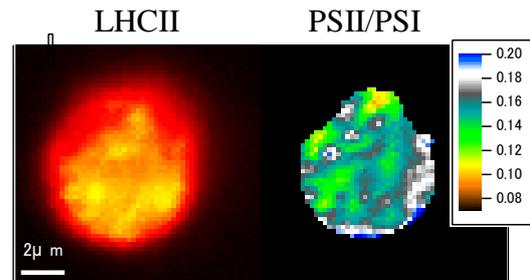


Fig. 2 Fluorescence images which are constructed by LHCII fluorescence intensity and fluorescence intensity ratio of PSII/PSI,

PSIIとLHCIIの分布の重なり度合いを定量化した相関係数 R を各細胞で計算した。 R はLHCIIの相対強度とPSII/PSI比の間のピアソンの積率相関係数である。細胞で平均したPSII/PSI比と R との関係をFig. 3に示す。Fig. 3よりPSIIの蛍光強度が相対的に強い細胞(ステート1)ではPSIIの近くにLHCIIが多く存在し、PSIの蛍光強度が相対的に強い細胞(ステート2)はLHCIIの分布がばらついていることが分かる。このことは、ステート2に誘導した細胞では一部のLHCIIがPSIIから外れてPSIに移動していることを示唆している。このように従来の生化学的手法ではなく、タンパク質の空間分布を直接観測し解析することで、細胞の状態を壊さずにLHCIIの移動を検証することに初めて成功した。

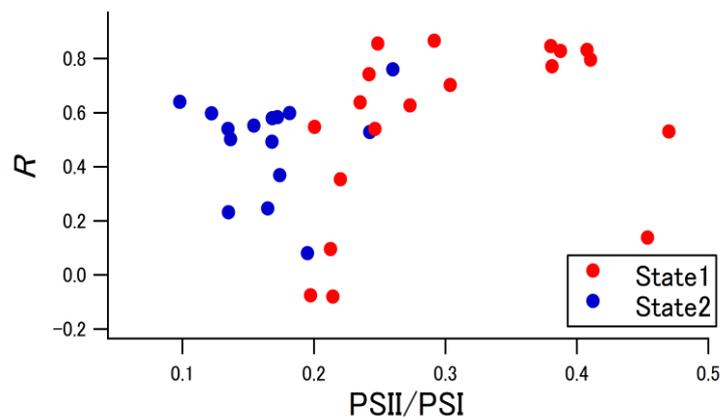


Fig. 3 Relationship between R and average PSII/PSI ratio.

【参考文献】

- [1] Wojciech J. *et al.* Nature Plants 2 DOL : 10.1038 (2016)
- [2] Shibata Y. *et al.* Biochemica et Biophysica Acta 880-887 (2014)