

ピコ秒時間分解蛍光分光を用いた光合成超複合体の エネルギー伝達過程の解明

¹熊大・院自然, ²阪市大・複合先端研, ³熊大・パルス研
○廣田悠真¹, 藤本将吾¹, 川上恵典², 神谷信夫², 小澄大輔³

Energy transfer processes among photosynthetic supercomplex as proved by ps time-resolved fluorescence spectroscopy

○Yuma Hirota¹, Shogo Fujimoto¹, Keisuke Kawakami², Nobuo Kamiya² Daisuke Kosumi³

¹ Graduate School of Science and Technology, Kumamoto Univ.

² The OCU Advanced Research Institute for Natural Science and Technology, Osaka City Univ.

³ Institute of Pulsed Power Science, Kumamoto Univ.

【 Abstract 】 Cyanobacteria contain light-harvesting antenna megacomplexes called phycobilisome to capture sunlight efficiently. Phycobilisome is composed of the different pigment-protein complexes such as allophycocyanin and phycocyanin and its structure is like a parabolic antenna. Light energy captured by phycobilisomes is efficiently transferred to Photosystem II which generates chemical energy by a water-splitting reaction. In this study, we investigated energy transfer dynamics in the phycobilisome-PSII supercomplex from cyanobacteria by picosecond time-resolved fluorescence spectroscopy. Energy transfer dynamics in the supercomplex was observed and the energy transfer rate was determined.

【序】 植物等が行う光合成は、自然界において地球上の多くの生物に必要な酸素を排出するシステムとして広く知られている。しかし、光合成における超効率的なエネルギー変換等は未だ解明されていない部分が多く、光合成メカニズムの解明は人類がより効率的にエネルギーを利用するために解決すべき課題である。シアノバクテリアは酸素発生型光合成の原始的生物として知られ、光合成分野において広く研究が行われている。シアノバクテリアは光を捕集する役割を持つアンテナ色素たんぱく複合体としてフィコビリソーム (PBS)を持つ。PBS はフィコシアニン (PC)、アロフィコシアニン (APC)といった異なる色素たんぱく複合体が、リンカーたんぱく質を介した相互作用により、70 nm 程度の大きさを持つパラボラアンテナのような構造を構成し¹、効率的な光捕集を行っている。また、PBS はチラコイド膜上で図 1 (A)のように光化学系 (PS II、PS I)と結合することで超複合体を形成し、捕集した光エネルギーを効率的かつ超高速に光化学系へ伝達する²。これまでの PBS に関する研究では、細胞内におけるたんぱく質間エネルギー伝達について報告されている³。しかし、PBS と光化学系が相互作用をしている超複合体をチラコイド膜から単離精製することが困難であることから、たんぱく質レベルでの研究はあまり進んでいない。本研究では生化学調製により、好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus vulcanus* から PBS-PS

II 超複合体を調製した。得られた PBS-PS II 超複合体に対してピコ秒時間分解発光分光を行い、超複合体におけるエネルギー伝達過程について検討した。

【方法 (実験・理論)】 好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus vulcanus* を細胞破碎することによりチラコイド膜を調製し、その後生化学調製により PBS-PS II 超複合体を得た。本研究では時間相関単一光子計数法 (TCSPC) を用いた蛍光寿命測定を行った。光源には、チタンサファイア再生増幅器からの出力パルスをもとに光パラメトリック増幅器で波長変換したものをを用いた。光源から出た光パルスは試料前で 2 分割し、片方を高速フォトダイオードで検出することで参照信号とし、もう片方は試料に照射した。試料からの発光は分光器を通したのちシングルフォトンアバランシェダイオードで検出した。参照信号と発光信号を TCSPC モジュールに取り込み、蛍光の時間変化を観測した。

【結果・考察】 図 1 (B) に 580 nm で PC を励起後の各検出波長における蛍光減衰曲線を示す。得られた蛍光減衰曲線に対し、指数関数による立ち上がり・減衰とガウス関数を仮定した装置関数を畳み込んだ関数でフィッティングを行ったところ、3 つの成分 (時定数: 0.12 ns, 0.59 ns, 1.57 ns) を得た。図 1 (C) に、観測を行った 610~790 nm における蛍光減衰曲線に対し、グローバル解析を用いて得た DAFS (Decay-Associated Fluorescence Spectra) を示す。ここで、負の成分は指数関数による立ち上がりであり、正の成分は減衰を表す。この図から、PC の蛍光を検出する 640 nm と、APC の蛍光を検出する 670 nm と、PS II の蛍光を検出する 690 nm における各時定数の寄与を比較すると、時定数 0.12 ns は PBS-PS II 超複合体の PC→APC、時定数 0.59 ns は APC→PS II へのエネルギー移動を表すと考えられる。また、時定数 1.57 ns は、PS II の寿命を表していると考えられる。

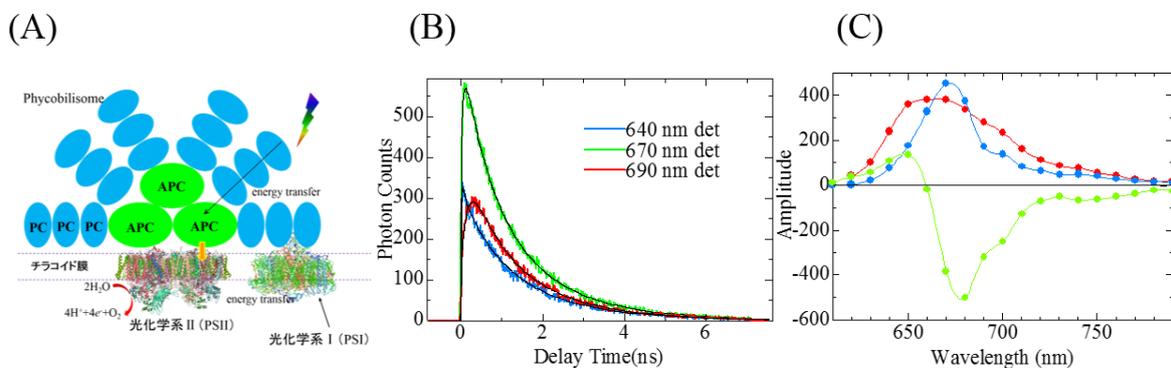


Fig.1 (A) A cartoon model of cyanobacterial antenna-photosystems in thylakoid membrane. (B) Fluorescence decay curves after excitation into PC at 580 nm. (C) Decay-associated fluorescence spectra obtained by a global analysis.

【参考文献】

- [1] Zhang, J.; Ma, J.; Liu, D.; Qin, S.; Sun, S.; Zhao, J.; Sui, S. F., Structure of phycobilisome from the red alga *Griffithsia pacifica*. *Nature* **2017**, *551*, 57.
- [2] Liu, H.; Zhang, H.; Niedzwiedzki, D. M.; Prado, M.; He, G.; Gross, M. L.; Blankenship, R. E., Phycobilisomes Supply Excitations to Both Photosystems in a Megacomplex in Cyanobacteria. *Science* **2013**, *342*, 1104.
- [3] Tian, L.; van Stokkum, I. H. M.; Koehorst, R. B. M.; Jongerius, A.; Kirilovsky, D.; van Amerongen, H., Site, Rate, and Mechanism of Photoprotective Quenching in Cyanobacteria. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133*, 18304.