

単一分子励起スペクトル測定による光化学系 I の光捕集過程の研究

¹東北大院理, ²岡山大異分野基礎科学研, ³名古屋大院・理
○小林 誉宗¹, Jana Sankar¹, 長尾 遼², 野口 巧³, 柴田 穰¹

Study on light harvesting of photosystem I by observation of single molecule excitation spectra

○Kobayashi Takanori¹, Jana Sankar¹, Nagao Ryo², Noguchi Takumi³, Shibata Yutaka³
¹ Graduate School of Science, Tohoku University, Japan
² Research Institute for Interdisciplinary Science, Okayama University, Japan
³ Graduate School of Science, Nagoya University, Japan

【Abstract】

Photosystem I (PSI) is a pigment-protein complex playing the role of the light-induced electron transfer in photosynthesis. The reaction center chlorophyll (Chl) is called P700. In the other 94 Chls acting as antenna, there are special ones called red Chl with the excitation energy lower than P700. The binding site of the red Chl is unknown. Here, we conducted the single molecule spectroscopy of PSI to get insight into the binding site of the red Chl. We succeeded in measuring excitation spectra of single PSI for the first time. The measured excitation and fluorescence spectra of single PSI slightly differ from each other. When the fluorescence peak was blue shifted, the intensity in the longer wavelength side of the excitation spectrum tended to increase. We explained the above observation by assuming two Chl pools having different excitation energies. The red Chl was suggested to belong to the lower Chl pool.

【序】

光化学系 I(以下 PSI)は、酸素発生型光合成において光誘起電子伝達を担うタンパク質である。PSI 単量体には 96 個のクロロフィル(Chl)-*a* 分子が結合しており、中心にある 2 つの Chl-*a*(反応中心 P700)が光誘起電荷分離反応を担う。その他の Chl-*a* は、吸収した光エネルギーを P700 に伝達するアンテナとして働き、それぞれ異なる励起エネルギーを持つ。中でも P700 よりも励起エネルギーが顕著に低い数個の Chl-*a* は red Chl と呼ばれ、低温では光エネルギーを P700 へ伝達出来ず蛍光として放出する。PSI の X 線結晶構造はいくつかの生物について明らかになっているが、red Chl の位置は明らかになっていない。PSI の単一分子分光の先行研究では、蛍光ピーク位置の時間変化や蛍光明滅など、red Chl の結合サイトの構造揺らぎに関する情報が得られてきた。一方、励起波長を変化させ励起スペクトルを取得することで、red Chl 以外のアンテナ Chl の情報も得ることが可能となる。本研究では、PSI 単一分子の励起スペクトルを初めて測定し、蛍光スペクトルとの関係から、エネルギー準位を元に red Chl とその他のアンテナ Chl との位置関係について考察した。

【方法 (実験・理論)】

Photonic 結晶ファイバーに fs パルスレーザーを入射し得られる白色光を、プリズムで分光する光路を構築した。LabView により、蛍光検出のための CCD カメラと同期した波長掃引が可

能となるシステムとした。サンプルとしては、X 線結晶構造が明らかになっている *Synechocystis* PCC 6803 から精製した PSI を用いた。タンパク質濃度は、本研究室で開発された極低温顕微鏡^[1]の分解能で各分子を分離可能となる 20 pM まで希釈し、実験温度は PSI の red Chl からの蛍光強度が増大する 80 K に保った。単一の PSI 分子の位置を特定した後、その分子の位置に励起光を固定し、励起波長を掃引しながら蛍光を検出することで励起スペクトルを取得した。

【結果・考察】 計 17 個の PSI 分子について、励起スペクトルおよび蛍光スペクトルを各 10 回ずつ測定した。多くの分子で測定中に蛍光退色が見られ、中には退色に伴い励起スペクトルの形や蛍光ピークの位置が変化する分子も見られた。得られた 170 個のスペクトルについて、蛍光ピーク位置ごとに全励起スペクトルを分類すると、

Fig.1 の矢印で示すように、蛍光ピークが短波長のものほど励起スペクトルの長波長側強度が大きいという傾向が見出された。この結果を説明するため、Fig.1~3 に示すように、アンテナ Chl を励起エネルギーの異なる 2 つのグループに分類するモデルを提案する。このモデルでは、長波長の Chl グループ(黄色)から red Chl へのエネルギー伝達効率は red Chl の励起エネルギーに依存するが、短波長のグループ(緑色)のそれは red Chl の励起エネルギーに依存しないと仮定する。このことは、長波長の Chl グループから red Chl へ直接励起エネルギーが伝達されることを示唆する。各 Chl の励起エネルギーを理論的に計算した先行研究^[2]では、Fig.3 に示した PSI 構造のうち、下側に励起エネルギーの低い Chl が集中していることが示された。この結果を踏まえ、Fig.3 に黄色で示した部分の Chl が長波長グループを形成し、その中に red Chl が存在すると結論した。

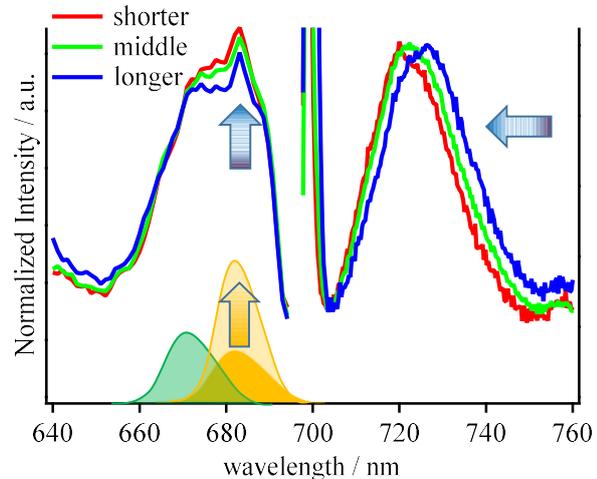


Fig.1. Average of excitation and emission spectra of PSI molecules.

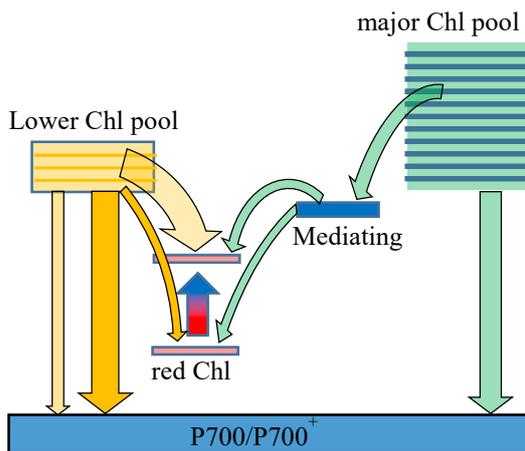


Fig.2. Model of energy transfer from antenna Chls

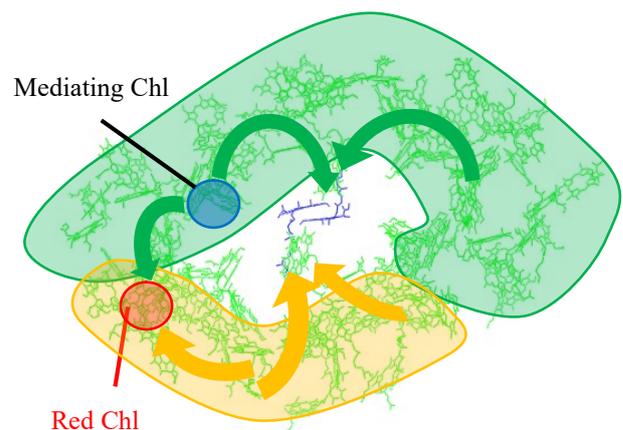


Fig.3. The assumed location of Red chl

【参考文献】

- [1] Shibata et al., BBA 2014
- [2] Adolphs et al., JACS 2010