

## 2P047 脂質膜中の光合成アンテナ複合体 LH2 の単一分子分光

(東工大院理工<sup>1</sup>・名工大物質工<sup>2</sup>) 内山大輔<sup>1</sup>, 星野創<sup>1</sup>, 松下道雄<sup>1</sup>, 末守良春<sup>2</sup>, 出羽毅久<sup>2</sup>, 南後守<sup>2</sup>

【序】 我々は、光合成細菌の光捕集系に存在する色素・タンパク複合体 (LH 複合体) について、複合体中の色素の光励起状態や色素間のエネルギー移動を、単一分子分光を用いて解明しようとしている。ミセル中の LH 複合体について、極低温での蛍光の明滅現象が観察された。以前の単一分子分光の結果、ミセル中の LH 複合体の構造は結晶構造と異なることが示唆されている。光合成膜中の LH 複合体もこのような明滅現象を示すのかどうか興味もたれる。今回、より自然な条件下で測定を行うために、複合体を脂質膜の中に導入した。

【アンテナ複合体の単一分子分光】 光のエネルギーを光合成反応中心に運ぶ役割を担う光捕集系には多数のタンパク質と色素が含まれ、アンテナ複合体と呼ばれる色素・タンパク複合体 (LH 複合体) を形成している。光合成細菌の場合、LH 複合体として反応中心を内部に含む LH1 と含まない LH2 の 2 種類がある。たんぱく質の振る舞いは一つ一つ異なるので、LH 複合体を 1 個 1 個分光測定することにより、初めて詳細な情報が得られる。このために我々は、極低温でたんぱく質の熱ゆらぎを固定し、共焦点蛍光顕微鏡を用いて発光励起スペクトルを測定している。

この方法で一個の LH 複合体の発光励起スペクトルを繰り返し取り続けると、Fig. 1 に示すような明滅現象が観測された。一時発光が消えても、再び元の発光強度に戻るため、この現象は可逆である。極低温で起こるこのような明滅現象のメカニズムは今のところ不明である。

試料作成の際、界面活性剤を用いて LH 複合体を可溶化していたので、観測したのはミセル中の LH 複合体である。我々は LH 複合体を脂質膜中に導入することにした。本来膜タンパク質である LH 複合体の挙動を脂質膜中で調べるためと、膜中にエネルギー移動を起こす LH 複合体の会合体を作り、一個の会合体で起こるエネルギー移動を観測するためである。

### 【透析による LH 複合体の脂質膜への導入】

手順は、1) 紅色光合成細菌を超音波で破碎し、2) 界面活性剤を用いて LH をミセルにして可溶化して取り出し、3) 取り出した LH を透析によって脂質膜の中に導入した。脂質には Dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) を用い、界面活性剤は Lauryl Dimethyl Amino Oxide (LDAO) を用いた。透析は、LH ミセルと脂質

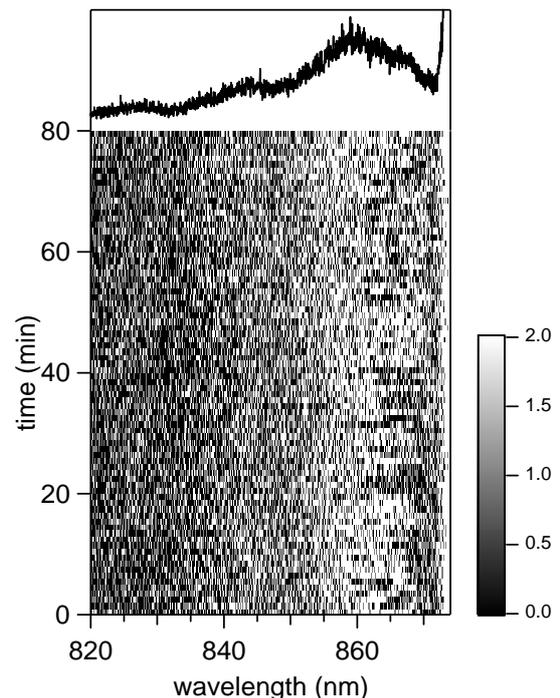


Fig.1 ミセル中の LH 複合体の明滅現象

の混合液をセルロースチューブに入れ、外液に浸して攪拌しながら 30 時間ほど行った。この際、単一分子分光を行うために、LH と脂質のモル比を調整し、脂質膜中で LH が孤立するような条件を探した。

LH1 : 脂質の比を 1 : 5000 ~ 50000 の間で変えて透析を行ったところ、LH1 : 脂質 = 1 : 10000 で作成した試料で、LH1 が孤立した (Fig.2)。LH1 と同様に透析によって LH2 を脂質膜に導入した。LH2 が孤立する割合は、LH2 : 脂質 = 1 : 50000 であった (Fig.3)。

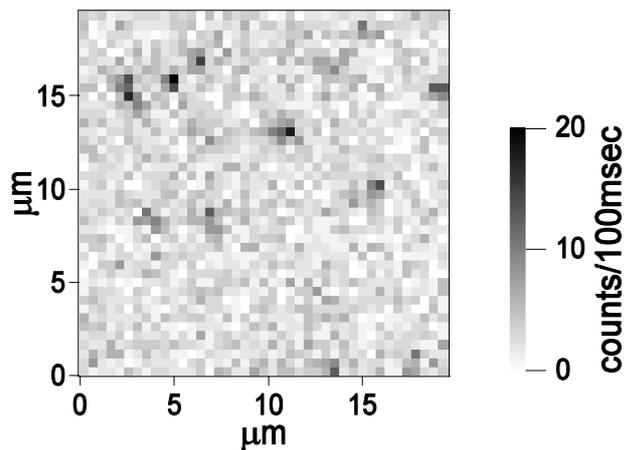


Fig.2 脂質膜中に孤立した LH1 の蛍光像

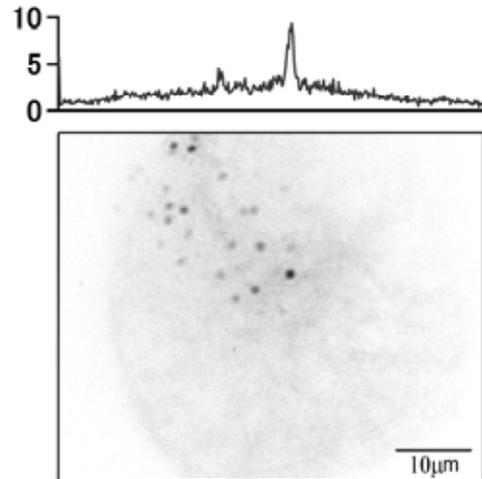


Fig3 脂質膜中に孤立した LH2 の蛍光像

#### 【脂質膜中の LH2】

透析した LH2 に PVA 溶液を混ぜてスピコートし PVA の薄膜を作り、その発光励起スペクトルを測定したところ、LH2 の配向がそろっていないことが分かった。これは、脂質膜が折れ曲がって多層膜になり、基盤に対する膜の配向がそろっていないためだと考えられる。脂質膜を 2 重膜にすると、基盤に対する膜の配向がそろおうと考えられる。脂質膜を 2 重膜にする方法として、透析後の試料を孔径 0.2 μm のフィルターを通して多層膜をひき延ばすサイジングという手法を用いる。このようにして脂質 2 重膜の中に LH2 が孤立した試料を作成し、単一分子分光を行う。

#### 【展望：LH 間のエネルギー移動】

今回は、透析を行って LH1 または LH2 単体が孤立した試料を作成し、単一分子分光を試みた。今後は、脂質膜中に反応中心, LH1, LH2 がそれぞれ一つずつ会合した系を作り、LH 間のエネルギー移動を会合系 1 つ 1 つについて調べることを目標にしている。