

単一分子分光による光合成アンテナ複合体のスペクトル拡散の観察

(東工大院理工^{*}, 名工大院工^{**})

○小井川浩之^{*}, 藤芳暁^{*}, 松下道雄^{*}, 末守良春^{**}, 出羽毅久^{**}, 南後守^{**}

【序】私達はタンパク質の構造の多様性について興味を持っている。そこで、光合成アンテナ複合体 LH2 を対象に、単一の複合体の顕微分光を 4K から 40K の温度で行った。単一 LH2 の B800 バクテリオクロフィル *a* 色素の発光励起スペクトルを測定し、スペクトルの時間変化を追い、スペクトル拡散の頻度や変化の大きさ、またその温度依存性から、低温でのタンパク質の構造変化の様子を調べた。

【LH2 のスペクトル拡散】タンパク質は多くの安定構造をもち、数 K という低温においてもこれらの安定構造の間を移り変わる。こうしたタンパク質の構造変化は LH2 に含まれるバクテリオクロフィル *a* 色素が感じる局所的な場を変化させ、その結果、色素の吸収スペクトルが変化する。したがって、このスペクトル拡散の様子を時間的に追うことで間接的にタンパクの構造変化の情報を得られる。スペクトル拡散は、通常のアンサンブル測定では集団の中に埋もれてしまい、平均化されて見る事ができない。また、300K 程度の温度では、タンパクが絶えず構造変化するために、スペクトル拡散が激しく起こるため、この場合にもその様子を知ることができない。そこで数 K から数十 K という低温環境下で、単一の複合体に対して発光励起スペクトルの時間変化を追うことで、スペクトル拡散の様子を調べた。

【実験】試料は、紅色光合成細菌 *Rhodospseudomonas acidophila* から取り出した LH2 を OGミセルで可溶化し 10^{-10} mol/l 程度の濃度になるように希釈したものを用いた。この希薄溶液に poly vinyl-alcohol (PVA) を加えたものを石英基板上にスピコートし、温度可変クライオスタット中に固定した (図 1)。この試料に対して共焦点顕微鏡と連続発振の波長可変 Ti:sapphire レーザー (線幅 1cm^{-1}) を用いることで、単一の LH2 B800 バンドの発光励起スペクトルを測定した (図 2)。発光励起スペクトルの測定に際して、レーザーの波長を何度も高速掃引 (掃引速度 4nm/sec) することで、発光励起スペクトルの時間変化を追跡した (図 3)。

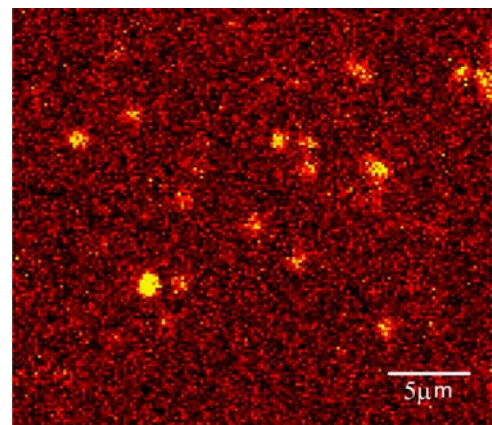


図 1: 石英基板上にスピコートした LH2 の蛍光像: 1 つの輝点が 1 つの LH2 の蛍光像

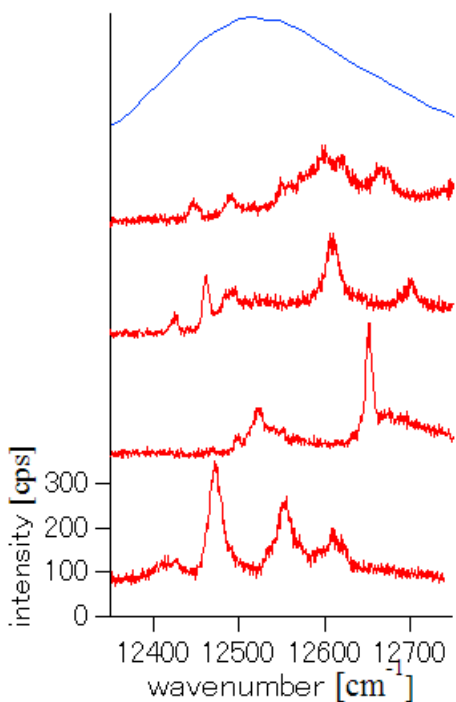


図 2 : 集団 LH2 の発光励起スペクトル(上)と4つの単一LH2の発光励起スペクトル

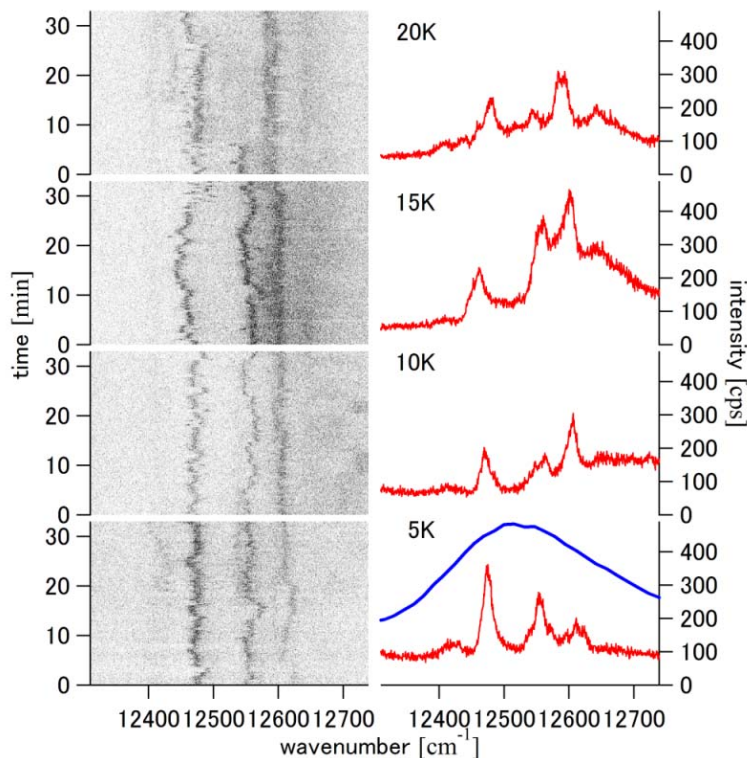


図 3 : 各温度での単一 LH2 の発光励起スペクトルの時間変化(左)とその時間平均

【結果】 図 3 は 5K から 20K の各温度で同一の LH2 に対して発光励起スペクトルの時間変化を追跡した結果である。この図を見てわかるように 5K という低温においてもスペクトル拡散は起こり、温度の上昇とともにスペクトル拡散も激しくなることがわかる。また図をよく見ると、B800 バンドのスペクトル拡散には、数分というスケールで起こっている速い変化と数十分というスケールで起こる遅い変化があることがわかる。

ここで示した例以外にも B800 バンド全体が同時に大きく変わるような変化や、吸収位置が大きくジャンプするような離散的な変化もみられた。このような LH2 B800 バンドの多様なスペクトル拡散は、タンパクの複雑なポテンシャル構造を反映していると考えられる。

発表では、こうした多様な LH2 B800 バンドのスペクトル拡散について説明し、特にスペクトル拡散の温度依存性については詳しく報告する。