

## 1P106

### 人工脂質膜中における光合成アンテナ複合体 LH2 の構造

(東工大院・理工<sup>1</sup>, 名工大院・物質工<sup>2</sup>, CREST<sup>3</sup>) 内山 大輔<sup>1</sup>, 藤芳 暁<sup>1,3</sup>, 松下 道雄<sup>1,3</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(アンテナ)系を構成する色素・タンパク複合体(LH 複合体)間のエネルギー移動について解明しようとしている。この観測は出来る限り簡単な系で行うのが好ましく、LH の 2 量体間のエネルギー移動の観測を考えている。この理想的な系を作るため、LH を人工脂質膜中に導入しその構造を調べた。

【アンテナ複合体 LH2】吸収した光のエネルギーを反応中心に運ぶ役割を担う部分はアンテナ系と呼ばれ、多数の色素とタンパク質から成る複合体によって構成されている。このような複合体の一つである Light Harvesting 2(LH2)複合体は、円環状の構造を持っている。X 線結晶構造解析による LH2 の構造は真円である。LH2 を細胞膜から分離する際に界面活性剤を用いて LH2 をミセル化し取り出す。ミセル中の LH2 は楕円に歪んでいる。

この歪みは LH2 の励起子状態を観測する方法によって求められた。LH2 において光を吸収する色素バクテリオクロロフィル *a* (BChl*a*)は、環状に分布している(図 1)。これらは吸収波長によって B800(図中青)、B850(図中赤)と分類されている。B850 の色素間隔は非常に短いためフレンケル励起子を形成する。B850 色素全体が励起子となるため、LH2 の構造変化は励起子状態に影響を及ぼす。LH2 の構造が真円の場合は励起子状態  $k = \pm 1$  が縮退しているが、実際は縮退が解け吸収バンドが分裂する。 $k = \pm 1$  の遷移双極子は直交しているため、励起光の偏光を変化させることで 2 つの吸収バンドが分離できる。得られる分裂幅  $E$  は LH2 の構造の歪み具合を知る指標となる。

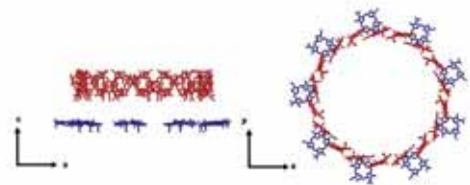


図 1 : LH2 内部の BChl *a* 色素の配列。B800(青)の内側にあるのが B850(赤)

【今回の実験では】膜タンパクである LH2 は、ミセル中よりも細胞膜の環境に近い脂質膜中の方が自然な状態と考えられる。そこで、人工脂質膜中の LH2 がどのような構造をとるかを調べた。

【透析による LH2 の人工脂質膜への導入】ミセルによって単離した LH2 を透析によって人工脂質膜中に導入した。脂質は Dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) を用い、LH2 と共に透析膜(セルロースチューブ)に入れて 30 時間外液に浸し 4 時間、遮光条件下で攪拌した。今回は、透析膜に入れる溶液のモル比を LH2 : 脂質分子 = 1 : 500 万に調整した。この条件では試料中の LH2 の濃度は  $10^{-12}$ M 程度である。この試料に対して、脂質膜中 LH2 のフォトブリーチ現象を観測することで、膜断片に含まれる LH2 が 1 個以下であることを確認した。また LH2 を取り巻く脂質膜断片の大きさを調べるため動的散乱法を用い、得られた結果から脂質膜断片を構成する脂質分子の個数を求め、およそ  $10^6$  個であることが分かった。以上より、十分な数の脂質分子からな

る膜断片の中に LH2 がほぼ一個の状態が入っており、単一分子観測に適切な系ができていているといえる。

【測定及び解析】上記試料に Poly Vinyl Alcohol(PVA) を加えてスピコートし薄膜にしたものを、共焦点顕微鏡を用い液体ヘリウム温度 1.5K で単一分子分光を行った。試料一分子にレーザー光の焦点を固定し、その偏光角度を  $10^\circ$  おきに変化させ、LH2 の発光励起スペクトルの励起光偏光依存性を測定した(図 2)。図 2 では、850nm ~ 860nm 付近にほぼ  $90^\circ$  の位相差を持った 2 つの成分があるのが見える。この 2 成分のピーク位置の差が励起子状態  $k = \pm 1$  のエネルギー差  $E$  に相当する。

完全に 2 成分に分離していない試料に対しても、分離するために、図 2 のスペクトルに

特異値分解解析法を適用した。まず偏光角度を周期  $180^\circ$  ごとに平均し、また  $k = \pm 1$  を含む部分の波長を抜き出す(図 3A)。この強度を数値化し波長を行、偏光角度を列にとった行列を  $A$  とすると、 $A = UWV^T$  のように特異値分解できる。U がスペクトル、V が偏光に対応する。W は特異値を対角要素に持つ行列である。今回は  $k = \pm 1$  の 2 成分のみを考えるので、大きいほうから 2 つの特異値とそれに対応する項 U の 1,2 列  $u_1, u_2$  及び V の 1,2 列  $v_1, v_2$  のみを考える(図 3B,C)。特異値分解は物理的な意味を持たないので、 $v_1, v_2$  を本来の偏光角度変化  $v_n' = \cos^2(x + \theta_n)$  の線形結合で再構成する： $v_m = c_{m1} v_1' + c_{m2} v_2'$  ( $m=1,2$ )。フィッティングの様子を図 3B に示す。得られた係数を用いると、 $u_1, u_2$  を本来のスペクトル  $u_1', u_2'$  に変換できる： $u_n = c_{1n} u_1' + c_{2n} u_2'$  ( $n=1,2$ )。

得られたスペクトルをフィッティングして吸収極大波長を求め、その差  $E$  を計算した。100 個前後の LH2 分子について測定・解析を行い、脂質膜中の LH2 の構造を決定した。

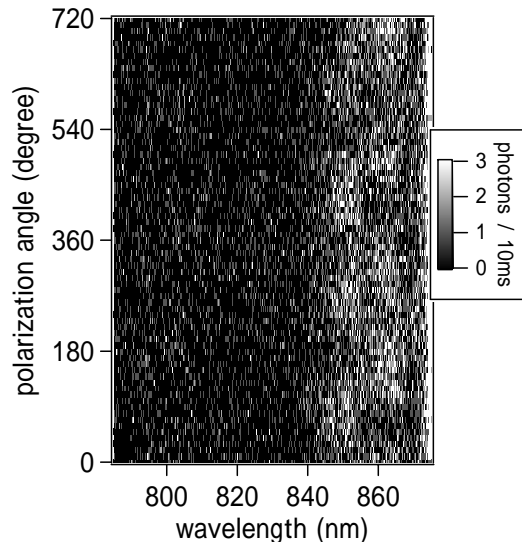


図 2：脂質膜中 LH2 の偏光依存性  
縦軸が励起光の偏光角度、横軸が波長を表し、発光励起スペクトルの強度変化を色で示す

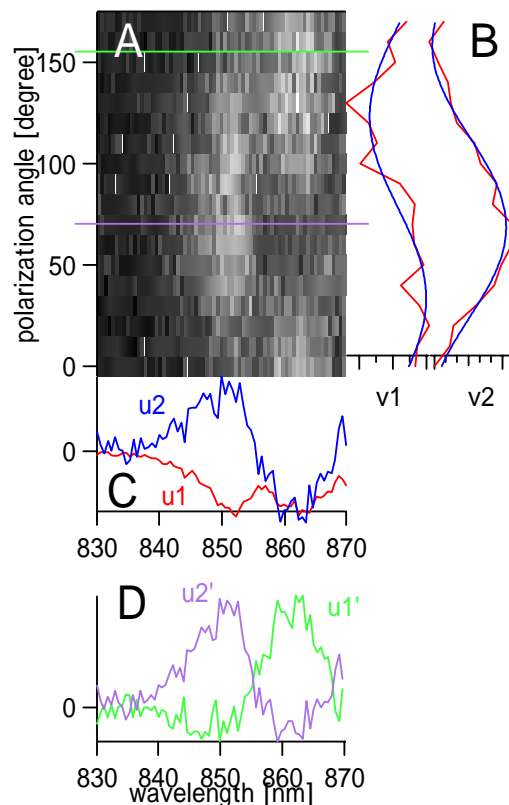


図 3:SVD 解析 A:図 2 を 830nm ~ 870nm の範囲で抜き出し偏光  $180^\circ$  周期で平均 B: 行列 V の 1,2 行目成分。青線は  $v_n'$  でフィッティング C: 行列 U の 1,2 番目成分 D: 再構成したスペクトル