

博士(環境科学) 横野牧生

学位論文題名

植物の多様な光捕集アンテナおよび
反応中心における励起エネルギー移動経路および
過剰エネルギーの緩和メカニズムの解析

学位論文内容の要旨

光合成の最も最初のステップでは光エネルギーが色素分子に吸収され励起エネルギーが発生する。多くの光合成生物では色素分子を光捕集アンテナに配置し、発生した励起エネルギーを反応中心に伝達している。アンテナと反応中心を分離可能にすることで、強光下で過剰な励起エネルギーが発生した場合はアンテナを減らしたり反応中心から切り離すといった対応が可能になる。この手法をとるためには高速に反応中心に励起エネルギーを伝達する経路が必要になる。

酸素発生型の光合成を行う生物ではPhotosystem II (PSII)およびPhotosystem I (PSI)の2つの光合成系を持ちそれに反応中心(Reaction center : RC)と光捕集アンテナを持つ。光合成細菌においてもRCの構造は高等植物のそれと類似性があり、2種類の反応中心のどちらかを保持している。その一方で、光を捕集し励起エネルギーを伝達する光捕集アンテナは非常に多様である。それに伴い光環境に適応するための仕組みや過剰な励起エネルギーへの対処方法も異なっている。

本研究では多様な光環境への適応方法を探るために、紅色光合成細菌Rhodobacter sphaeroides、シアノバクテリアであるGloeobacter violaceus PCC 7421、Fremyella diplosiphon IAM M-100、Synechocystis sp. PCC 6803、緑藻Chlamydomonales reinhardtiiおよびCodium fragile、高等植物ではArabidopsis thaliana、Taxus cuspidataをサンプルとして用いた。これらのサンプルに対し、時間相関单一光子計数法および蛍光アップコンバージョン法による時間分解蛍光スペクトル(Time-resolved fluorescence spectra : TRFS)の測定を行い、その結果を解析することで種々の光合成生物における励起エネルギー移動および過剰なエネルギーの消去過程を検討した。また色素の改変効果を検討するために、未知の遺伝子を特定する新規のバイオインフォマティックツールを開発し、色素を改変した新たなミュータントも時間分解蛍光測定用のサンプルとして用いた。

紅色光合成細菌Rhodobacter sphaeroidesはPSIIタイプの反応中心を持ち、その周りをコアアンテナであるLH1が取り囲み、さらにLH2と呼ばれるリング状のアンテナが

存在している。これらは色素分子としてクロロフィルであるBacteriochlorophyll(BCh I)やカロテノイドであるspheroideneを含むが、強光下ではケト体であるspheroidenoneが多くなる。単離された色素のフェムト秒TRFSの測定から、ケト基の影響で分子内の励起エネルギーの熱変換が速くなっていることが確認された。

シアノバクテリアは酸素発生型の光合成をする生物の中では最も始原的であり、光捕集アンテナとしてphycobilisomeを持つものの、その構造は多種多様である。生細胞および単離されたアンテナのピコ秒TRFSの解析から、色素の構成やアンテナ同士を接続するリンカータンパクの違いによるアンテナ内外での励起エネルギー移動の変化が明らかになった。弱光環境ではアンテナを積層することが有効であることが確認された。

緑藻Chlamydomonadales reinhardtiiは光環境に応じてアンテナを移動させることができているが、それに伴う励起エネルギー移動経路の変化は不明であった。今回アンテナ移動の後に単離されたアンテナ反応中心複合体のピコ秒TRFSを、単離されたアンテナおよび反応中心のTRFSで再解析することで、移動したアンテナが確かに反応中心へエネルギーを伝達していること、またアンテナが接続したことにより反応中心への全体的なエネルギー移動が遅くなっていることが明らかになった。一方でCodium fragileはケトカロテノイドをタンパクと相互作用させることで広い波長領域の光を利用していた。

常緑樹は低温条件においても光合成装置を保持したまま光障害を最小限に食い止め早春から光合成を開始することができる。これは他の植物には無い高度な光防御によると思われるがその詳細には不明な点が多い。ピコ秒TRFSおよび葉緑体の電子顕微鏡写真の解析から、常緑樹であるイチイにおける励起エネルギー移動および緩和過程の季節変化を検討した。イチイは夏や秋はArabidopsis thalianaと類似のエネルギー移動過程を示すが、冬には光捕集アンテナの数が減少し、残ったアンテナはPSIやクエンチャーと共に複合体を形成しエネルギー移動およびクエンチが起こっていた。PSII領域においてもカロテノイド関与と思われる高速な励起エネルギーのクエンチが見られた。さらに春にはPSIから光捕集アンテナが外れクエンチャーと結合していることも明らかになった。こうした変化と連動してチラコイド膜のスタッキングが変化することも確かめられた。

以上の研究結果から光合成生物が光環境に適応するうえでとる対応がいくつか明らかになった。まず一つ目には色素単位での調節があげられる。色素の蓄積量の増減以外にも、置換基を付けることで電子準位の性質を変化させたり、共役鎖長を調節して電子準位のエネルギーレベルを上下させることができている。二つ目にはアンテナタンパクの配置替えで調節することが上げられる。これは反応中心への励起エネルギーの流入量を制御するのに有用である。またアンテナタンパクを集積させることで弱光条件に適応もできる。三つ目は色素とタンパクの相互作用を用いる方法があると考えられる。これにはカロテノイドとタンパクとが相互作用することで生まれる新たな電子準位が関与しており、光捕集だけでなく光防御にも働くと思われる。常緑樹であるTaxus cuspidataはこれら3つを全て用いて低温下での光障害を最小限にとどめており、その強固な光防御機構の一端を明らかにできた。

学位論文審査の要旨

主査 教授 森川正章

副査 教授 田中歩

副査 教授 福井学

副査 准教授 秋本誠志（神戸大学大学院理学

研究科）

学位論文題名

植物の多様な光捕集アンテナおよび 反応中心における励起エネルギー移動経路および 過剰エネルギーの緩和メカニズムの解析

光合成の最も最初のステップでは光エネルギーが色素分子に吸収され励起エネルギーが発生する。多くの光合成生物では色素分子を光捕集アンテナに配置し、発生した励起エネルギーを反応中心に伝達している。酸素発生型の光合成を行う生物では Photosystem II (PSII) および Photosystem I (PSI) の2つの光合成系を持ちそれに反応中心(Recation center : RC)と光捕集アンテナを持つ。光合成細菌においても RCの構造は高等植物のそれと類似性があり、2種類の反応中心のどちらかを保持している。その一方で、光を捕集し励起エネルギーを伝達する光捕集アンテナは非常に多様である。それに伴い光環境に適応するための仕組みや過剰な励起エネルギーへの対処方法も異なっている。

本研究では多様な光環境への適応方法を探るために、紅色光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides*、シアノバクテリアである *Gloeobacter violaceus* PCC 7421、*Fremyella diplosiphon* IAM M-100、*Synechocystis* sp. PCC 6803、緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* および *Codium fragile*、高等植物では *Arabidopsis thaliana*、*Taxus cuspidata* をサンプルとして用いている。これらのサンプルに対し、時間相関単一光子計数法および蛍光アップコンバージョン法による時間分解蛍光スペクトル(Time-resolved fluorescence spectra : TRFS)の測定を行い、その結果を解析することで種々の光合成生物における励起エネルギー移動および過剰な光エネルギー消去の過程が検討された。また色素の変換効果を検討するために、未知の遺伝子を特定する新規のバイオインフォマティックツールが開発され、色素を変換した新たなミ

ュータントも時間分解蛍光測定用のサンプルとして用いられた。

紅色光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* は PSII タイプの反応中心を持ち、その周りをコアアンテナである LH1 が取り囲み、さらに LH2 と呼ばれるリング状のアンテナが存在している。これらは色素分子として bacteriochlorophyll や spheroidene を含むが、強光下ではケト体である spheroidenone が多くなる。単離された色素のフェムト秒 TRFS の測定から、ケト基の影響で分子内での励起エネルギーの熱変換が速くなり、光防御に有効である可能性が指摘された。一方で緑藻の *Codium fragile* はケトカロテノイドをタンパク質と相互作用させることで広い波長領域の光を捕集していた。

シアノバクテリアは酸素発生型の光合成をする生物の中では最も始原的であり、光捕集アンテナとして phycobilisome を持つものの、その構造は多種多様である。生細胞および単離されたアンテナのピコ秒 TRFS の解析から、弱光環境ではアンテナを積層することが有効であるが、励起エネルギー伝達速度は若干低下することが確認された。緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* のアンテナ系においても類似の効果が報告された。

常緑樹は低温条件においても光合成装置を保持したまま光障害を最小限に食い止め早春から光合成を開始することができる。これは他の植物には無い高度な光防御によると思われるがその詳細には不明な点が多い。ピコ秒 TRFS および葉緑体の電子顕微鏡写真の解析から、常緑樹であるイチイにおける励起エネルギー移動および緩和過程の季節変化が明らかになった。イチイは夏や秋は通常の高等植物と類似のエネルギー移動過程を示すが、冬には光捕集アンテナの数が減少し、残ったアンテナは PSI や クエンチャーラーと共に複合体を形成し励起エネルギーの移動および熱変換が起こっていた。PSII 領域においてもカロテノイド関与と思われる高速な励起エネルギーの熱変換が見られた。さらに春には PSI から光捕集アンテナが外れクエンチャーラーと結合していることも明らかになった。こうした変化と連動してチラコイド膜のスタッキングが変化することも確かめられた。

以上の研究結果から光合成生物が光環境に適応するうえでとる対応がいくつか明らかになった。まず一つ目には色素単位での調節があげられる。色素の蓄積量の増減以外にも、置換基を付けて電子準位の性質を変化させたり、π電子の共役鎖長を調節して電子準位のエネルギーレベルを上下させることができている。また色素とタンパク質を相互作用させることでも電子準位の性質を変化させることができる。二つ目にはアンテナやクエンチャーラーの量や位置を調節することが上げられる。これは反応中心への励起エネルギーの流入量を制御するのに有用である。またアンテナやクエンチャーラーを集積させることで様々な光環境に適応できる。常緑樹であるイチイはこれらを全て用いて低温下での光障害を最小限に止めつつ、春にすばやく光合成を再開することができており、その機構の一端を明らかにできた。さらに、今回開発された新規のバイオインフォマティックツールは光合成色素の合成遺伝子のみならず様々な遺伝子の特定に用いることが可能であり、現時点で機能が未知である多数の遺伝子の機能をさらに解明することができると期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。