紅色光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* S1 に結合した spirilloxanthin のフェムト秒時間分解吸収分光

丸田 聡^A, 堀部 智子^{A,B}, 小澄 大輔^{A,B}, 藤井 律子^{A,B}, 杉崎 満^{A,B}, 橋本 秀樹^{A,B} ^A大阪市立大学大学院理学研究科, ^BJST, CREST

Femtosecond Pump-Probe Spectroscopy of Spirilloxanthin Bound to RC-LH1 Core Complexes from a Purple Photosynthetic Bacterium *Rhodospirillum rubrum* S1

S. Maruta^A, T. Horibe^{A,B}, D. Kosumi^{A,B}, R. Fujii^{A,B}, M. Sugisaki^{A,B} H. Hashimoto^{A,B} ^AGraduate School of Science, Osaka City University ^BJST, CREST

Spectroscopic properties of spirilloxanthin in solution (benzene) and bound to the RC-LH1 core complexes in chromatophore membranes from of *Rhodospirillum rubrum* S1 were studied by femtosecond pump-probe spectroscopy under variable excitation conditions. Lifetimes of the S₁ and S₂ states of spirilloxanthin both in solution and bound to the RC-LH1 were determined. According to these lifetimes, the efficiency of energy transfer of the S₂ \rightarrow Q_x and S₁ \rightarrow Q_y were determined to be 47% and 0%, respectively. The energy transfer from bacteriochlorophylls to carotenoids is also observed after excitation to the Q_x state of bacteriochlorophylls. The results show the mutual energy transfer between carotenoids and bacteriochlorophylls.

1.序論

植物及び細菌類の営む光合成は、太陽光 をエネルギー源として、それを電気化学エ ネルギーに変換している。その結果、地球 上のほとんどすべての生物にエネルギーを 供給している[1]。その初期過程においてカ ロテノイド (Car) (Car は、光合成系の色素 蛋白複合体に含まれ、自然界に多く存在す るポリエン骨格を有する色素の総称であ る)やバクテリオクロロフィル (Bchl)とい った光合成色素分子が重要な役割を担って いる。その役割の一つとして、光エネルギ ーの捕集と捕集したエネルギーを分子間で 高効率に伝達する機能を持つ [1,2]。紅色光 合成細菌の光合成系は、LH1 とLH2 という 2 種類の光捕集アンテナ色素蛋白複合体と、 取り込んだ光エネルギーを電気化学的エネ ルギーに変換する光反応中心複合体 (RC) により構成されている [1]。Carには、光学 許容な最低励起一重項状態 S₂ (1¹Bu⁺)があり、 400~600nm に見られる強い吸収帯に相当 する。さらに S₂ よりも低いエネルギーに光 学的禁制な S₁ (2¹Ag⁻)状態がある [2]。また、 Bchl には特有のエネルギー状態として、可 視から近赤外領域に Q_x と Q_y状態があるこ とが知られている [1,2]。これまでの研究か ら、紅色光合成細菌において、S₁→Q_y 及び S₂ →Q_x のエネルギー移動が観測されてい

るが、本研究で試料として用いた *Rhodospirillum (Rsp.) rubrum* S1 \mathcal{C} *it*, S₁ \rightarrow Qvのエネルギー移動効率が低い (~0%)こと が報告されている [3,4]。また、これまでの 研究では Bchl から Car へのエネルギー移動 は、原理的に可能であるにもかかわらず、 起こらないものと考えられている [2]。本研 究では、Rsp. rubrum S1 から調製した LH1 におけるエネルギー伝達経路を明らかにす ることを目的とした。Rsp. rubrum S1 はコア アンテナ (RC-LH1)のみを持つ菌体で、結合 している Car は、spirilloxanthin (Spx)である。 フリーな状態と束縛された状態での Spx の 振る舞いを比較するために、Spx が溶液中 とLH1に結合した状態に分け、フェムト秒 時間分解分光を用いて調べた。さらに LH1 に結合する Spx の S2 励起と Bchl の Qx 励起 後のダイナミクスを調べた。その結果から 各励起状態の寿命を決定し、各々の状態か らの緩和経路とエネルギー移動効率につい て調べた。

2.実験

2.1.試料

本研究で用いた光合成膜内における LH1-RCの集合体をLH1 chromatophore と呼 ぶ。それぞれの試料調製は、参考文献 [5] と同様の方法を用いた。LH1 chromatophore は、紅色光合成細菌 *Rsp. rubrum* S1 から遠 心分離とフレンチプレスを行い抽出し、そ して 20mM Tris-HCl に分散させた。Spx は *Rsp.rubrum* S1 菌体から有機溶媒で抽出し、 カラム精製により精製した。精製した Spx を、溶媒として benzene を用いて溶解させ た[5]。

2.2.実験装置
 ・測定

光源として、フェムト秒再生増幅装置 (繰り返し周波数:1kHz、中心波長 780 nm、 パルス幅 100 fs 、 Hurricane, Spectra-Physics 製)を用いた。光源から出た 光を2つに分け、一方は光パラメトリック 増幅器 (OPA-800CF、Spectra-Physics 製) を 用いて波長変換し、励起光とした。もう一 方の光はサファイアに集光させて白色光に し、検索光として用いた。検索光 は分光器 を通した後、リニアイメージセンサ (S3903-1024Q、浜松ホトニクス製)にて検 出を行った。試料は、光路長 1.0mm のフロ ーセルに流して測定した。溶液中の Spx は S₂励起後、LH1 chromatophore については S_2 励起後と Bchl の Q_X 励起後のダイナミク スについて、pump-probe 分光を用いてそれ ぞれ調べた。それぞれの励起エネルギーは、 図 1 の破線矢印で示すように、Spx の S₂ (2.25eV)、BchlのQ_x (2.07eV)に調整した。

3.結果と考察

図1にLH1 chromatophore と benzene 中の Spx の定常吸収スペクトルを示す。2.00~ 2.60eV に観測される Spx の S₂吸収を比較し



図 1 LH1 chromatophore と benzene 中の Spx における定常吸収スペクトル。

たところ、benzene 中も chromatophore 中も 吸収ピークがほぼ等しいので、巨視的には 同じ静電環境であるとみなすことができる。 そのため、LH1 中と benzene 中のダイナミ クスを比較することにした。

図 2 (a), (b) にそれぞれ、benzene 中と LH1 chromatophore 中の Spx の 0-0 遷移を励起後 の光誘起吸収スペクトルを示す。図2(a)に おいて、光励起後、2.20eV より高エネルギ 一側では、基底状態の分布が減少したこと によるブリーチング信号が観測された。ま た 2.00eV 付近に Spx の S₂からの内部転換 により生成した S1 の過渡吸収信号が観測さ れた[3]。また、時間の経過とともに、この S₁による過渡吸収が減衰している。図2(b) において、光励起直後に高エネルギー側で 溶液中の Spx と同様に、ブリーチング信号 が観測された。2.00~2.20eV では励起状態 からさらに上の励起状態への過渡吸収信号 が観測された。2.00eV付近に現れる S1 によ る過渡吸収信号は、5ps 以降で減衰しきって



図 2 S₂励起後の benzene 中と LH1 中の Spx の遅延時間に対する光誘起吸収スペクトル。



図 3 S_2 励 起 後 の benzene 中 と LH1 chromatophore 中の Spx における 2.03eV の時間依存性の比較とフィッティング曲線。

いる。それに対し、2.15 eV の吸収ピークは 200ps まで残り続けているというのが特徴 的である。図 3 に、benzene 中と LH1 chromatophore 中の Spx における 2.03eV (S₁ 過渡吸収信号)の時間依存性の比較及びフ ィッティング曲線を示す。フィッティング は、応答の立ち上がりまたは減衰を表す指 数関数に、装置関数であるガウス関数を畳 み込んだもので行った。解析の結果、 benzene 中における S1の過渡吸収信号の立 ち上がりは 80±20 fs であり、これは S2状 態の寿命である。同様に、LH1 chromatophore 中における Spx の S1 過渡吸収信号の立ち上 がりは40±20fsであることが求まった。こ の違いはLH1に結合した状態では、Bchl へ の S₂→Q_x のエネルギー移動があるためで ある[2-4]。benzene 中と LH1 中の S₂寿命の 比較から、S2→Qxのエネルギー移動効率が 47% (エネルギー移動速度: (90fs)⁻¹)であるこ とが求まった。また benzene 中と LH1 中に おける Spx の S₁状態の寿命は、1.4±0.1 ps と等しく、S₁→Q_vのエネルギー移動はほと んど起こらないことが示された。

図 4 に、LH1 中における Bchl の Q_x励起 後と Spx の S₂励起後の光誘起吸収スペクト



図 4 LH1 中の Spx における S₂及び Q_x励起 後の光誘起吸収スペクトル。

ルの比較を示す。2 つのスペクトル形状は 異なるものの、S₂励起の際にも観測される、 2.00 eV, 2.15 eV, 2.40 eV の特徴的な信号は、 Q_x 励起でも観測された。また、図から 2.40 eV 付近に Spx のブリーチング信号が観測さ れていることと、2.00 eV 付近に S₁の過渡吸 収信号が観測されていることから、Bchl か ら Car にエネルギー移動があることが確認 できる。

図 5 に LH1 中の Spx における S₂励起と Q_x励起後の 2.00 eV での時間依存性とフィ ッティング結果を示す。S₁ の信号の立ち上 がりは、S₂励起後 (40 fs)よりも Q_x励起後 (30 fs)の方が、わずかながら早いことが観測 された。Q_x→S₁のエネルギー移動は無いも のと考えられていることを序論でも述べた が、本研究より Q_x→S₁の超高速なエネルギ ー移動経路の存在が示唆される。

4.まとめ

本研究では、Rsp. rubrum S1 から調製した



図 5 LH1 中の Spx における S₂及び Q_x励起後 の2.00eVでの時間依存性とフィッティング曲線。

LH1 chromatophore 中と benzene 中における Spx の pump-probe 分光を行った。フェムト 秒時間分解吸収スペクトルから得られた各 励起状態の時間依存性及びそのフィッティ ング結果から、*Rsp. rubrum* S1 では S₁→Q_y のエネルギー移動は効率的ではなく(~0%)、 S₂→Q_x のエネルギー移動は効率的(47%)で あることが示された。また Bchl の Q_x 励起 後の解析から Bchl から Car へのエネルギー 移動も確認された。

参考文献

 B.R. Green and W.W. Parson (Eds.), "Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis", Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2003.
 T. Polívka and V. Sundström, Chem. Rev., 104 (2004) 2021.

[3] C. Gradinaru, *et al.*, Proc. Natl. Sci. U.S.A., **98** (2001) 2364

[4] E. Papagiannakis, *et al.*, J. Phys. Chem. B, 107 (2003) 11216.

[5] K.Nakagawa, *et al.*, Photosynth. Res, **95** (2008) 345.