

# 渦鞭毛藻光合成アンテナにおける超高速エネルギー伝達 ダイナミクス

木田雅俊<sup>A</sup>、山元颯太<sup>B</sup>、川上恵典<sup>C</sup>、内田博子<sup>D</sup>、村上明男<sup>D</sup>、  
神谷信夫<sup>E</sup>、小澄大輔<sup>F</sup>

熊本大学・理学部<sup>A</sup>、熊本大学・自然科学教育部<sup>B</sup>、理研・SPRING-8<sup>C</sup>、  
神戸大学・内海域環境教育研究センター<sup>D</sup>、大阪市立大学・人工光合成研究センター<sup>E</sup>、  
熊本大学・産業ナノマテリアル研究所<sup>F</sup>

M. Kida<sup>A</sup>, H. Yamamoto<sup>B</sup>, K. Kawakami<sup>C</sup>, K. Kawakami<sup>C</sup>, H. Uchida<sup>D</sup>, M. Murakami<sup>D</sup>,  
N. Kamiya<sup>E</sup>, and D. Kosumi<sup>F</sup>

*Department of Physics, Faculty of Science, Kumamoto University<sup>A</sup>*

*Department of Physics, Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University<sup>B</sup>*

*RIKEN, SPRING-8<sup>C</sup>*

*Research Center for Inland Seas, Kobe University<sup>D</sup>*

*Research Center for Artificial Photosynthesis, Osaka-city University<sup>E</sup>*

*Institute of Industrial Nanomaterials, Kumamoto University<sup>F</sup>*

Photosynthetic antenna apparatus efficiently capture sunlight and transfer the energy to reaction centers. Chlorophyll *a/c*-peridinin protein complex (acpPC) is an integral membrane complex from dinoflagellate. The acpPC complex contains major carotenoid peridinin (Per) and minor xanthophylls-cycle carotenoids diadinoxanthin (Ddx) and diatoxanthin (Dtx). Per exhibits spectral characteristics attributed to an intramolecular charge transfer (ICT) state located nearby the lowest-lying  $S_1$  excited state that arises in polar environments due to the presence of the carbonyl group in its polyene backbone, leading to the generation of a strongly coupled  $S_1$ /ICT state. Consequently, Per efficiently transfers the absorbed energy to nearby Chl *a* via  $S_1$ /ICT state. On the other hand, Ddx and Dtx are the xanthophylls-cycle carotenoids that play photoprotective functions by dissipating excitation energy as heat. In this study, we performed on the two different fractions of functional acpPC from dinoflagellate *Symbiodinium* sp. to clarify roles of two carotenoids in energy transfer dynamics.

**1. はじめに** 天然光合成反応では、アンテナ色素タンパク複合体が太陽光を吸収し、そのエネルギーを電荷分離反応が行われる反応中心へと伝達する。紅藻起源の葉緑体をもつ渦鞭毛藻は、サンゴ共生藻や植物プランクトンとして水圏の一次生産を支えている。その光合成アンテナとして peridinin-chlorophyll *a* protein (PCP) と chlorophyll *a/c*-peridinin protein complex (acpPC)の2タイプが報告されている [1, 2]。PCP 及び acpPC はそれぞれ

PSII 又は PSI の周辺アンテナとして光捕集を行い (図 1)、光合成色素として chlorophyll *a* (Chl *a*)とカロテノイドである peridinin (Per: 図 2(A))を持つ。Per はポリエン骨格内

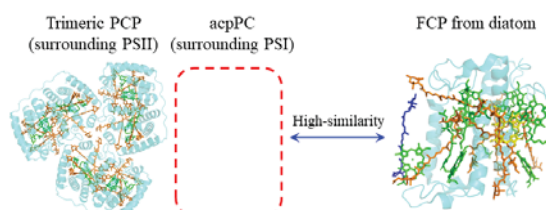


図 1: 渦鞭毛藻及び珪藻の周辺アンテナ。

にカルボニル基を持つことから極性環境下で分子内移動状態を発現し、Per から Chl への超効率的なエネルギー伝達を実現している [3]。一方、apcPC には光捕集を行う Per の他に diadinoxanthin (Ddx) 又は diatoxanthin (Dtx) (図 2(A)) といったカロテノイドを含む。Ddx と Dtx は照射光量により変化する生体膜中の pH に応じ、その分子構造が互いにスイッチングする(キサントフィルサイクル) [4]。このようなカロテノイドを含む apcPC は、光捕集のみならず光保護的な側面を持つことから、その多様な光合成機能が注目されている。水溶性タンパク質(膜表在型)である PCP は、既に高分解能結晶構造解析が報告されているものの [5, 6]、膜タンパク質(膜内在型)である apcPC の構造は未だ解明されていない。アミノ酸一次配列から apcPC の構造は、最近報告された珪藻由来光合成アンテナ fucoxanthin-chlorophyll *a* protein (FCP) と相溶性が高いことが予測されている (図 1) [7, 8]。本研究では、渦鞭毛藻 *Symbiodinium* sp. strain SGCH-03 より 2 種類の apcPC を調

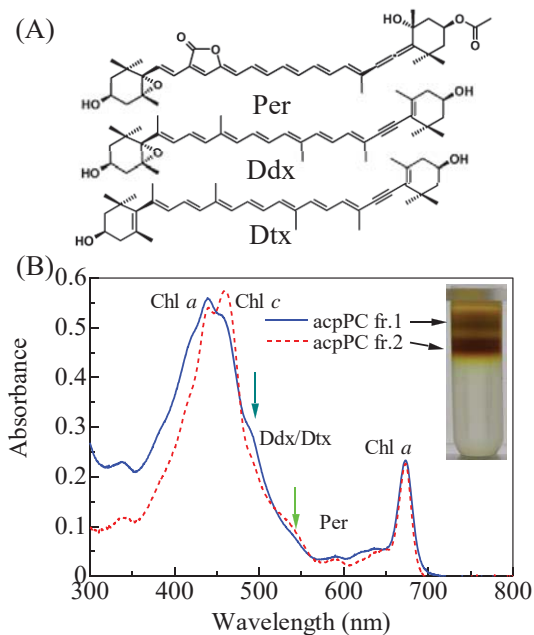


図 2: (A) 渦鞭毛藻の光合成アンテナに含まれるカロテノイドの化学構造式。(B) 渦鞭毛藻 *Symbiodinium* sp. strain SGCH-03 から調製した 2 種類の apcPC の定常吸収スペクトル。

製し [9]、その光合成アンテナ機能をフェムト秒ポンプ・プローブ分光法により調べた。

## 2. 実験

**2.1 試料調製** 培養した渦鞭毛藻細胞を破碎して得られたチラコイド膜を可溶化し、密度勾配遠心分離により apcPC 分画を得た (図 2(B)内挿図)。

**2.2 フェムト秒ポンプ・プローブ分光測定** チタンサファイア再生増幅器 (パルス幅 100 fs、パルス繰返し 1 kHz, 1 W) の出力光を 2 分割し、光パラメトリック増幅器 (TOPAS-C, Spectra-Physics) により得た波長可変パルスをポンプ光とした。プローブ光には 2 mm 厚のサファイアガラスに基本波の一部を集光することで得られる広帯域白色光を用いた。試料を透過したプローブ光は、分光器に通した後に 512ch. フォトダイオードアレイ (PDA) で検出した。再生増幅器の 1 kHz をマスタークロックとした 0.5 kHz で駆動する光学チョッパーでポンプ光を強度変調し、PDA の検出タイミングと同期した [10, 11]。

**3. 結果と考察** 渦鞭毛藻より得られた 2 つの apcPC (fr.1 と fr.2) の定常吸収スペクトルを図 2(B) に示す。特徴的な吸収帯が、440 nm (Chl *a*)、460 nm (Chl *c*)、490 nm (Ddx/Dtx)、540 nm (Per)、670 nm (Chl *a*) に観測された。fr.2 は先行研究で報告された apcPC と同等のスペクトル形状を示したことから、これまで報告されているタンパク質と同様に三量体構造をとっていると考えられる [12]。一方、

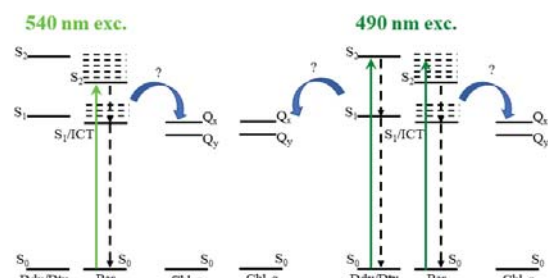


図 3: apcPC に含まれる光合成色素 Ddx/Dtx、Per、Chl *a* のエネルギー準位図。

超遠心分離による区画では、fr.1 は fr.2 よりも分子量が小さく、タンパク質に含まれるカロテノイドの組成比が大きく異なっていた。fr.1 は光捕集的な Per の量が少なく光保護作用を果たす Ddx/Dtx が多く含まれている。従って fr.1 は、新たな形態の acpPC であると考えられる。本研究では fr.1 と fr.2 に異なる組成比で含まれる Per と Ddx/Dtx の役割に着目し、540 nm の光パルスで Per を選択励起し、490 nm の光パルスで Ddx/Dtx の優先的励起を行った (図 3)。

図 4 に光励起後 1.0 ps における acpPC fr.1 及び fr.2 の光誘起吸収スペクトルを示す。540 nm 励起では、fr.1 と fr.2 で大きな違いは見られず同等のスペクトル形状を示した。特徴的な信号としては、500~650 nm にブロードな正の吸収変化と <500 nm 及び 670 nm 付近に負の吸収変化が観測された。500~650 nm に観測されたブロードな信号は、Per の最低励起一重項状態  $S_1$  と極性環境下で発現する分子内電荷移動状態 (ICT 状態) がカップルした  $S_1$ /ICT 状態による過渡吸収である [13-15]。<500 nm に観測された負の変化は、Per が励起されたことによる基底状態の減少を表す褪色信号である。670 nm に観測された負の信号は Chl *a* の褪色・誘導放出であり、Per 励起後に Chl *a* の信号が観測されていることから Per→Chl *a* のエネルギー伝達が起きていることを示している。490 nm 励起

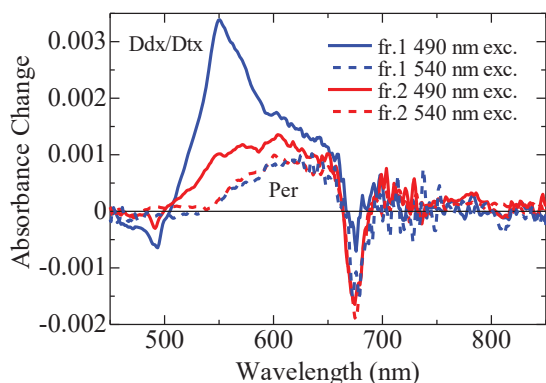


図 4: acpPC fr.1 及び fr.2 における 490 又は 540 nm 励起後 1.0 ps における光誘起吸収スペクトル。

後 1.0 ps のスペクトルでは、fr.2 は 540 nm 励起の場合と同等のスペクトル形状を示したのに対し、fr.1 は 550 nm 付近にシャープで特徴的な過渡吸収信号を示した。この信号は Ddx/Dtx の  $S_1$  状態による過渡吸収信号であり [16]、Ddx/Dtx をより多く含む fr.1 で顕著に表れている。一方 fr.2 では、540 nm 励起の場合と比較すると 490 nm 励起ではわずかに Ddx/Dtx の過渡吸収が現れているものの、Per による信号が支配的である。また、490 nm 励起後の fr.1 では、カロテノイドによる過渡吸収信号の大きさに対して Chl *a* の褪色信号が小さいため、エネルギー伝達効率が低いことを表している。これは、光保護的な Ddx/Dtx からのエネルギー伝達は起こらず、490 nm でわずかに励起される Per からのエネルギー伝達であると推測される。

図 5 に 540 nm 光パルスで Per 選択励起後の Per  $S_1$ /ICT 過渡吸収及び Chl *a* 褪色信号の時間依存性を示す。観測された信号の時間変化に対し、指数関数による立ち上がり・減衰とガウス関数を仮定した装置関数を畳み込んだ関数でフィッティングを行った (図 5 細線)。Per  $S_1$ /ICT 過渡吸収信号の時間依存性には fr.1 及び fr.2 ともに 0.07 ps の立ち上がりと 0.59 ps 及び 5.8 ps の減衰成分が観測された。 $S_1$ /ICT 過渡吸収の立ち上がりとして観測された 0.07 ps の成分は、光励起により生

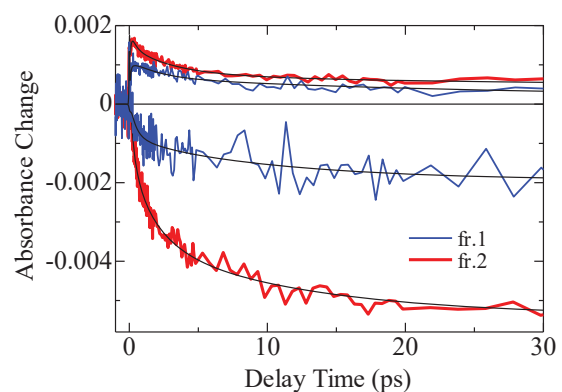


図 5: acpPC fr.1 及び 2 における 540 nm 励起後の Per 過渡吸収信号 (610 nm) と Chl *a* 褪色信号 (674 nm) の時間依存性。

成された光学許容励起一重項状態  $S_2$  の寿命である。Chl *a* 褪色信号の立ち上がりには、 $S_2$  寿命の 0.07 ps 及び  $S_1$ /ICT 寿命に関連した 0.59 ps 及び 5.8 ps の成分が含まれていた。このことは、光励起された Per の  $S_2$  と  $S_1$ /ICT の両方の状態からエネルギー伝達が行われていることを示し、その全効率は 90%に及ぶことが明らかになった。

490 nm 励起で観測される Ddx/Dtx の  $S_1$  過渡吸収の時間依存性から、 $S_2$  寿命は 0.1 ps、 $S_1$  寿命は 13.1 ps であった。観測された  $S_1$  過渡吸収のピークが 550 nm であることから、含まれるカロテノイドが Dtx であることが推察され、acpPC 中の  $S_1$  寿命が溶液中と同じく 13 ps であることから [4, 16]、Dtx の  $S_1$  状態からエネルギー移動が行っていないことが明らかになった。

**4. まとめ** 本研究では、渦鞭毛藻 *Symbiodinium* sp. strain SGCH-03 より調製した周辺アンテナ acpPC における光合成エネルギー伝達ダイナミクスをフェムト秒ポンプ・プローブ分光により明らかにした。生化学調製により、従来報告されていた acpPC (fr.2)とそれとは異なる形態の acpPC (fr.1)を得ることに成功した。本研究で新たに得られた acpPC fr.1 は、分子量が小さく色素組成が異なりエネルギー伝達を行わない Ddx/Dtx を多く含むことから、光捕集よりも光保護的な機能を担っていることが推測される。

#### 参考文献

[1] D.M. Niedzwiedzki, J. Jiang, C.S. Lo, R.E. Blankenship, *Photosynth. Res.* **120** (2014) 125.  
[2] T. Polivka, I.H. van Stokkum, D. Zigmantas, R. van Grondelle, V. Sundstrom, R.G. Hiller, *Biochemistry* **45** (2006) 8516.  
[3] D. Zigmantas, R.G. Hiller, V. Sundstrom, T. Polivka, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99** (2002) 16760.

[4] H.A. Frank, A. Cua, V. Chynwat, A. Young, D. Gosztola, M.R. Wasielewski, *Biochim. Biophys. Acta* **1277** (1996) 243.  
[5] E. Hofmann, P.M. Wrench, F.P. Sharples, R.G. Hiller, W. Welte, K. Diederichs, *Science* **272** (1996) 1788.  
[6] T. Schulte, D.M. Niedzwiedzki, R.R. Birge, R.G. Hiller, T. Polivka, E. Hofmann, H.A. Frank, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106** (2009) 20764.  
[7] W. Wang, L.J. Yu, C. Xu, T. Tomizaki, S. Zhao, Y. Umena, X. Chen, X. Qin, Y. Xin, M. Suga, G. Han, T. Kuang, J.R. Shen, *Science* **363** (2019) eaav0365.  
[8] R. Nagao, K. Kato, T. Suzuki, K. Ifuku, I. Uchiyama, Y. Kashino, N. Dohmae, S. Akimoto, J.R. Shen, N. Miyazaki, F. Akita, *Nat. Plants* **5** (2019) 890.  
[9] S. Iida, A. Kobiyama, T. Ogata, A. Murakami, *Photosynth. Res.* **98** (2008) 415.  
[10] D. Kosumi, K. Abe, H. Karasawa, M. Fujiwara, R.J. Cogdell, H. Hashimoto, M. Yoshizawa, *Chem. Phys.* **373** (2010) 33.  
[11] R. Kojima, H. Yamamoto, C. Azai, C. Urugami, H. Hashimoto, D. Kosumi, H. Oh-oka, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **401** (2020) 112758.  
[12] J. Jiang, H. Zhang, G.S. Orf, Y. Lu, W. Xu, L.B. Harrington, H. Liu, C.S. Lo, R.E. Blankenship, *Biochim. Biophys. Acta* **1837** (2014) 1904.  
[13] J.A. Bautista, R.E. Connors, B.B. Raju, R.G. Hiller, F.P. Sharples, D. Gosztola, M.R. Wasielewski, H.A. Frank, *J. Phys. Chem. B* **103** (1999) 8751.  
[14] D. Zigmantas, R.G. Hiller, A. Yartsev, V. Sundstrom, T. Polivka, *J. Phys. Chem. B* **107** (2003) 5339.  
[15] D. Zigmantas, T. Polivka, R.G. Hiller, A. Yartsev, V. Sundstrom, *J. Phys. Chem A* **105** (2001) 10296.  
[16] M.M. Enriquez, A.M. LaFountain, J. Budarz, M. Fuciman, G.N. Gibson, H.A. Frank, *Chem. Phys. Lett.* **493** (2010) 353.