

1 分子蛍光分光による光合成タンパク質の光捕集機構の解明

Light-harvesting mechanism of photosynthetic proteins revealed by single-molecule fluorescence spectroscopy

東北大学 柴田 穰

単一の色素分子からの蛍光を検出し、そのスペクトルを測定する1分子イメージング、1分子分光の技術が確立され、それ以前には見えなかった分子の揺らぎなどに関する多くの知見が得られてきた。光合成タンパク質は、多くの葉緑素クロロフィル (Chl) を結合しており、1分子分光の対象としてこれまでいくつかの研究が行われてきた。とくに、結合する Chl が吸収した光エネルギーを反応中心タンパク質へ伝達する役割を持つアンテナタンパク質は、高い蛍光収率を示すためこれまで1分子分光測定の格好の対象として研究されてきた。光合成アンテナタンパク質の室温での1分子分光では、蛍光強度が数秒おきにランダムに変化するブリンキングと呼ばれる現象が報告されており、タンパク質のわずかな構造変化が Chl の蛍光収率を劇的に変化させる点に非常に興味を持たれている。一方で、光合成反応中心タンパク質は、吸収した光エネルギーを高い量子収率で電子移動反応へと変換することがその本来の機能であるため、一般に蛍光収率は低い。そのため、1分子分光実験を行うことが出来るのは比較的蛍光収率が高くなる極低温のみであった。

本研究では、蛍光収率の低い光合成反応中心タンパク質の1分子分光をより高い温度で可能にするため、これまでに研究代表者が開発してきた全く新しいタイプの極低温光学顕微鏡を利用した。従来の極低温顕微鏡には、対物レンズを1) クライオスタット内部の冷媒に浸す、2) クライオスタットの外側に設置する、の2種類のタイプがあった。1) では単純な単レンズの対物レンズしか使用できないため、2) ではサンプルと対物レンズとの距離が長くなるため、高い開口数を持つレンズを用いることが出来なかった。開発した極低温顕微鏡では、対物レンズをクライオスタットの断熱真空スペースに配置する新規なデザインを採用することにより、サンプルと対物レンズの距離を格段に短縮した。これにより、蛍光の集光効率が飛躍的に改善した。また、対物レンズは室温に保たれるため高度な色収差補正を施したものが使用可能となり、色収差に関する性能も格段に向上した。開発した極低温顕微鏡を用いて、植物の光合成反応中心タンパク質の1つである、光化学系 I (Photosystem I; 以下、PS I と表記) 1分子からの蛍光スペクトルを初めて液体窒素温度で測定することに成功した。この研究から、90 K 付近で観測した単一の PS I からの蛍光は、室温の単一アンテナタンパク質で見られたような数秒おきのランダムな明滅 (ブリンキング) を示すことが明らかになった。反応中心タンパク質 PS I の1分子からの蛍光が明滅するのは、いったいどういうことなのか? ブリンキングの機構については現時点では憶測の域を出ないが、以下のようなモデルを考えている。このモデルでは、励起エネルギーを効率よく熱に変換する消光分子が PS I 内部に1つ存在していることを仮定する。明状態では、Chl からの励起エネルギーは消光分子を避けるように流れるのに対し、暗状態ではわずかなタンパク質の構造変化によりエネルギー伝達経路が変化し消光分子へ励起エネルギーが流れるようになる、と考える。一般的に、高効率な励起エネルギー移動は光合成の光反応が高効率に進むことを保証する。その一方で、植物は乾燥状態や強光などのストレス下ではむしろ積極的に吸収した光エネルギーを熱に変換することで、過剰な光エネルギーが反応中心に流入して生体に害になることを防ぐ機構を発達させてきたことが知られている。このような励起エネルギー移動効率の調節の機構はまだよく分かっていないが、今回見つかった PS I のブリンキングが、その分子機構に関係しているかもしれない。