

研究報告書

「暗所で光合成を行う藻類の創生」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成23年4月～平成26年3月

研究者: 鞆 達也

1. 研究のねらい

生物エネルギー創生の中核を為す光合成反応は、可視光に吸収極大を位置するクロロフィル、とりわけクロロフィル *a* を光エネルギー変換に用いるように進化してきた。地表に到達する太陽光エネルギーは光合成産物の酸素由来のオゾン層により紫外線の大部分はカットされており、その極大は可視領域にある。しかし、エネルギー分布を見てみると近赤外領域のエネルギー量は可視領域とほぼ同等である。このため近赤外(低エネルギー)領域を光合成反応に用いることができれば、新しいエネルギーが創生可能になる。光合成細菌もバクテリオクロロフィルを用い低エネルギー側に吸収帯をもつが、電子供与体として無限にある水を用いることができない。近年、クロロフィル *a* よりも低エネルギー側に吸収極大をもつ新奇クロロフィルをもつ酸素発生型光合成生物が発見された。この新奇クロロフィルの光合成反応機構を解明し、応用することで新たな光による光合成エネルギーの創生が可能になる。

これは、新奇クロロフィルを光合成・人工光合成に組み込むことにより、可視光よりも低エネルギー側の光源で光合成反応が行えることを意味する。例えば、既存のクロロフィル *a* 型の光合成生物を透過した光の利用、太陽光の届かない深海においても熱水鉱床などの熱源があればそこに近赤外光が含まれており光合成利用可能になること、工場などの熱源の存在するところで可視光を使わずにエネルギー創生が可能になる等の系の創生が考えられる。私のさきがけ研究では、より低エネルギー領域を吸収する新奇クロロフィルを用いて、これまで酸素発生型光合成反応に使用されていなかった領域の光を用いて光合成エネルギーを創生することを目的とする。

2. 研究成果

(1) 概要

クロロフィル *a* よりも低エネルギー側に吸収極大をもつクロロフィル *d* を光合成色素としてもシアノバクテリアより、光エネルギー変換を担う光化学系複合体を単離・精製し、その機構解明を行った。光合成光化学反応において、水を電子供与体として用いることが持続可能な光合成エネルギー変換につながるが、可視光に吸収極大をもつクロロフィルより、低いエネルギーをもつ新奇クロロフィルがどうやって足りないエネルギーを補償しているかが不明であった。この制御機構を各電子伝達成分の電位を調べることにより明らかにした。また、これを制御するための方法の一つを明らかにした。また、光合成は希薄なエネルギーを濃縮して反応中心と呼ばれる電荷分離を担うクロロフィルに伝える必要があるが、その効率的な伝達機構を明らかにした。エネルギー創生において水素生産を目的とする人工光合成系の作成にとりかかり、その足場となる系の作成を行った。

(2) 詳細

(1) 低エネルギーで光エネルギー変換が可能な仕組み

光合成光化学系複合体は希薄なエネルギーを濃縮するために、光捕集を担うアンテナクロロフィルを結合したタンパク質が多数存在する。光合成光化学系 II の詳細な機能を明らかにするためには、それらアンテナクロロフィルを取り除き、最小の電荷分離能をもつ複合体を単離・精製することにより解析可能になる。高等植物においては、ホウレンソウ等から光化学系 II 反応中心複合体と呼ばれる最小の電荷分離能をもつ複合体が単離精製され、光化学系の電荷分離の原理解明に大きな貢献があった。一方、シアノバクテリアから化学系 II 反応中心複合体の単離精製の報告はその生化学的困難さ故、本さきがけ研究者の報告を含め、2-3報程度しか報告がない。本研究ではこの生化学的困難さを伴う、シアノバクテリアの中でも、クロロフィル *d* を主要色素としてもつ種から光化学系 II 反応中心複合体を単離・精製し(図 1) その低エネルギー光利用を明らかにしたとここに特色がある。



図 1 クロロフィル *d* を主要色素とするシアノバクテリアの光化学系 II 単離精製標品の電気泳動図 (lane 1:marker, lane 2:光化学系 II, lane 3: 光化学系 II 反応中心複合体)

光化学系においてクロロフィルが電荷分離を担うとき、その基底状態と励起状態のエネルギー差はクロロフィルの吸収帯のエネルギーに相当する。クロロフィル *d* を主要色素としてもつシアノバクテリアにおいて電荷分離を担うとされる反応中心クロロフィルはクロロフィル *d* であることを、本さきがけ研究者らは既に明らかにしてきたが、その足りない電位をどうやって補償しているかの謎は残されたままであった。本さきがけ研究において単離精製した光化学系 II 反応中心標品を用いて、その電子伝達成分の電位を直接滴定することにより、その仕組みをあきらかにした。その結果、電荷分離を担うクロロフィルの電位は変えずに、還元側の初期電子受容体および第二次電子受容体の電位をクロロフィルのエネルギー差に応じてシフトさせることにより、制御していることを見いだした。これは、光合成生物が進化の過程で得た、水をも酸化する高電位形成のための水分解側(酸化側の)電位は変えてはならないという、水分解の普遍的原理をも明らかにしたことになる(1,2)。この模式図を図2に示す。クロロフィル *d* の他の性質は、クロロ

フィル *a* とほぼ同じであることも報告した(3)。

また、この原理を応用することにより、電荷分離をになうクロロフィル種が変わったとしても、酸化側の電位は変化させることなく、還元側の電子伝達成分の電位をクロロフィルの種に応じてシフトさせれば、より低エネルギーの光でも持続可能な光合成エネルギーの創生ができる原理を見いだした。

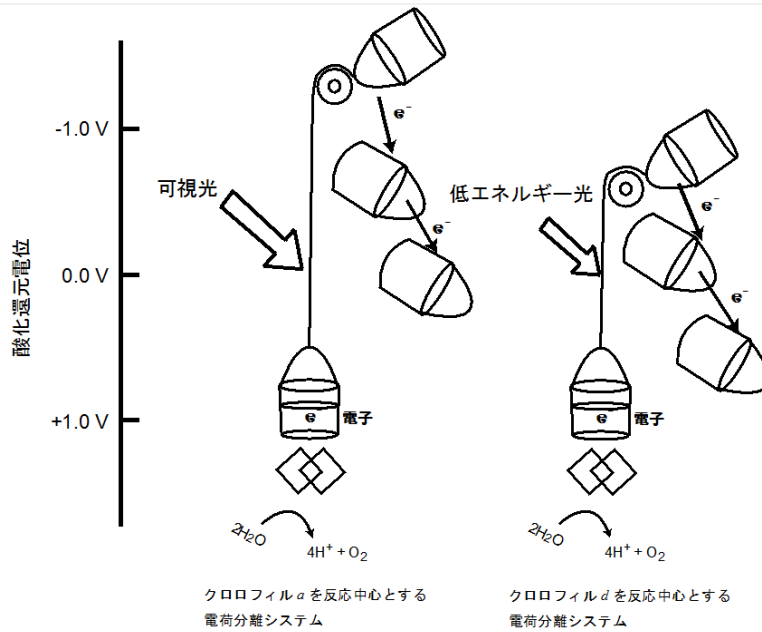


図2 低エネルギー光を用いて酸素発生型光合成を行う模式図

(2) 電位の制御

光化学系 II の還元側の電位の制御は酸化側に位置する表在性タンパク質によって調節可能なことを明らかにし、低エネルギー利用のための電位調整の方法の一つを明らかにした。光合成生物、とりわけ藻類の光合成には非常に多様性があることが特色である。水分解反応を安定化する、光化学系 II 複合体の表在性タンパク質にも多様性があることを明らかにしているが、紅藻や珪藻に存在する新奇表在性タンパク質の影響と構造・機能を明らかにしたことにより、これら新奇表在性タンパク質の結合により、電位が正側にシフトすることを見いだした(4,5)。これらを利用して新奇クロロフィルでの光エネルギー変換が可能になると考えられる。

(3) アンテナ色素の光エネルギー利用の効率化

近年発見された、より低エネルギーに吸収極大があるクロロフィル*f*を持つシアノバクテリアのエネルギー移動機構を明らかにした(投稿中)。このシアノバクテリアは近赤外光で培養することにより、クロロフィル*f*を蓄積することに特徴がある。クロロフィル*f*の役割や局在部位についての報告は現在までにない。このシアノバクテリアの細胞を液体窒素温度において時間分解蛍光を測定したところ、クロロフィル*a*からクロロフィル*f*への励起エネルギー移動は励起後数 ps 以内に生じることが明らかとなった。これはクロロフィル*f*がクロロフィル*a*と近接していることを意味する。蛍光帯の解析により red クロロフィルと呼ばれているクロロフィルとエネルギーを共役していることが示唆された。このクロロフィル*f*からクロロフィル*a*へのアップヒルなエネルギー移動が生じていることにより、近赤外光下でも十分な光合成が可能になっていることが明らかとなった。また、珪藻の集光性タンパク質の光エネルギー移動システムを fs-ps レベルで明らかにした。光合成は過剰な光が生じると活性酸素等のラジカルが生じ生体を損傷する危険性がある。これを回避するために、過剰なエネルギーを熱として消失する機構の存在が必須になる。とりわけ、二次共生藻類は代謝回転をはやめることと、このエネルギー消光システムが発達していることにより効率的に光を利用していることを明らかにした(6,7)。

この結果は、新奇クロロフィルにおける光合成において応用可能であり、効率の良いエネルギー変換機構の創生につながる。

(4)人工光合成系の創生

光合成のエネルギー移動効率および電子伝達の効率は通常光において 100%に近い理想的な反応である。電子伝達において、最終的に NADPH のような還元力が得られるが、この代わりにプロトン還元することによって水素生産が可能になる。水素は代表的な次世代エネルギーの一つであり、自然の光合成系を応用した人工光合成の創生はエネルギー供給において火急の課題である。光化学系複合体を金粒子に結合させることにより、電子の授受を行いそれをヒドロゲナーゼや Pt 触媒を用いることにより、水素生産が可能になる。そのためには、分子を配向させて結合させることが必要になるが、まずは水分解系を担う光化学系 II 複合体を遺伝子改変により標識を付加し、金粒子と相互作用により結合させることに成功した。現在、光化学系 I のタンパク質を改変または、電子伝達成分を人工的に入れ替えて分子配線することにより電子を取り出す系の開発を進めている。

3. 今後の展開

クロロフィル *f* をもつシアノバクテリアより、光化学系 I および II を単離・精製することにより、クロロフィル *f* の正確な局在位置と低エネルギー利用機構を分光学的手法を用いて解析する。室温における。クロロフィル *f* からクロロフィル *a* へのアップヒルなエネルギー移動原理を確立することにより、それを応用したクロロフィル *f*、クロロフィル *d*、クロロフィル *a* を組み合わせた光合成系を作製することにより、どのような光質でも光合成エネルギー生産可能な生物・反応系の創生を行う。

酸素発生型光合成反応において低エネルギー光利用可能な原理を明らかにした。また、それに必要な電位を制御する方法を見いだした。これらを組み合わせ、低エネルギー光を用いた人工光合成を含むエネルギー変換系の作製を行う。また、クロロフィル環の C2 位および C3 位をフォルミル基に置換することにより、吸収極大がさらに低エネルギー側にシフトする知見を得るので、そのクロロフィルの新規合成を化学的および酵素学的に行う。化学的に得られた新規クロロフィルを既存の光化学系に結合させるとともに基盤や金粒子に結合させ人工光合成系の開発を進める。クロロフィル *f*、クロロフィル *d*、クロロフィル *a* を組み合わせた光合成系を作製することにより、光合成による新しいエネルギーの創生を行う。

4. 評価

(1)自己評価

既存のクロロフィル *a* と比較して低エネルギー領域に吸収極大をもつ新奇クロロフィルの光合成反応は還元側の電位を調節することにより、クロロフィル種が変わっても水分解反応を維持できる根本原理を明らかにした。光合成タンパク質を金粒子・基盤等に結合させ電子を取り出す基盤技術の創生は完成が近い。一方、遺伝子改変を行い、より低エネルギー側に吸収極大をもつクロロフィルの開発はその遺伝子の同定が進まなかったことにより当初の計画より遅れている。クロリン環に化学合成により π 電子を導入し吸収を長波長シフトさせる方法を試みたが、期待したほどの低エネルギーシフトは実現できなかった。引き続き、より低エネルギーに吸収極大を位置するクロロフィルの合成遺伝子的手法・化学的手法により続けていく。本研究

で得た成果および途中経過を、より一層加速し研究を進めていき、藻類による新しいエネルギー創生を行う。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

酸素発生型の光合成には、可視光が利用されているのに対して、本研究は、赤外光を用いて光合成を行うことを可能にし、可視光の存在しない暗闇でも酸素発生型光合成を駆動できるようにすることで、新たな光合成エネルギーの創生を目指している。研究期間を通じて、提案課題を実現するための基礎的知見を多くの論文成果と出来たことは、研究領域に十分な貢献を果たしたと評価する。さらに独創的で新しいコンセプトを作り進展させ行くことを期待する。また、実用化に向けた進展については、産官学の共同研究などを積極的に推進し、基礎研究の社会還元に向けた取り組みも進めて欲しい。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Suleyman I. Allakhverdiev, Tohru Tsuchiya, Kazuyuki Watabe, Akane Kojima, Dmitry A. Los, Tatsuya Tomo, Vyacheslav V. Klimov, and Mamoru, Redox potentials of primary electron acceptor quinone molecule (Q_A)⁻ and conserved energetics of photosystem II in cyanobacteria with chlorophyll *a* and chlorophyll *d*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2011, 108, 8054-8058
2. Tatsuya Tomo, Suleyman I. Allakhverdiev, Mamoru Mimuro, Constitution and energetics of photosystem I and photosystem II in the chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina*, J. PHOTOCHEM. PHOTOBIOLOG. B, 2011, 104, 333-340
3. Tatsuya Tomo, Hayato Kusakabe, Ryo Nagao, Hisashi Ito, Ayumi Tanaka, Seiji Akimoto, Mamoru Mimuro, Shigetoshi Okazaki, Biochim. Biophys. Acta, 2012, 1817, 754-759
4. Chihiro Uno, Ryo Nagao, Hiroyuki Suzuki, Tatsuya Tomo, Takumi Noguchi, Structural Coupling of Extrinsic Proteins with the Oxygen-Evolving Center in Red Algal Photosystem II As Revealed by Light-Induced FTIR Difference Spectroscopy, Biochemistry, 52, 5705-5707
5. Ryo Nagao, Michihiro Suga, Ayako Niikura, Akinori Okumura, Faisal Hammad Mekky Koua, Takehiro Suzuki, Tatsuya Tomo, Isao Enami, Jian-Ren Shen, Crystal Structure of Psb31, a Novel Extrinsic Protein of Photosystem II from a Marine Centric Diatom and Implications for Its Binding and Function, Biochemistry, 2013, 52, 6646-6652
6. Ryo Nagao, Makio Yokono, Seiji Akimoto and Tatsuya Tomo, High Excitation Energy Quenching in Fucoxanthin Chlorophyll *a/c*-Binding Protein Complexes from the Diatom *Chaetoceros gracilis*, J. PHYS. CHEM. B, 2014, 117, 6888-6895
7. Ryo Nagao, Shuji Takahashi, Takehiro Suzuki, Naoshi Dohmae, Katsuyoshi Nakazato, Tatsuya Tomo, Comparison of oligomeric states and polypeptide compositions of fucoxanthin chlorophyll *a/c*-binding protein complexes among various diatom species,

(2)特許出願

なし

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

国際学会・シンポジウム招待講演

○International Conference "Photosynthesis Reserch for Sustainability", CURRENT TOPICS OF CHLOROPHYLL-D DOMINATED CYANOBACTERIAL PHOTOSYSTEMS, Azerbaijan, 2011年7月24-30日

○Phototsystem reaction by using near infrared light, JST-PRESTO International Joint Symposium on Photo-Science Leading to a Sustainable Society: Environment, Energy, Functional Materials, Hiyoshi, Kanagawa, Japan, 2012年3月25日～3月28日

○International meeting"Photosynthesis Research for Sustainability - 2013", Redox regulation of photosystem II with a focus on newly chlorophyll, Azerbaijan, 2013年6月5日～9日

○1st Korea-Japan Microalgae Symposium, Low photon-energy utilization by cyanobacteria, Daejeon, Korea, 2013年10月10日～10月12日

国内学会・シンポジウム招待講演

○第54回日本植物生理学会, クロロフィル *d*を主要色素としてもつシアノバクテリアの光化学系II反応機構, 2013年3月21日～3月23日

○第85回日本生化学会, クロロフィル *d*を主要色素としてもつシアノバクテリアの光合成について, 2012年12月14日～12月16日

○植物科学シンポジウム「植物科学最先端研究への期待」, 低エネルギー光による光合成光エネルギー変換, 2012年12月3日

プレスリリース

「近赤外線を用いて水を分解する詳細な光合成メカニズムを解明」日経産業新聞、日刊工業新聞、科学新聞(2011年5月)