

# 研究報告書

## 「藻類の光吸収制御のための理論的基盤の確立」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 24 年 10 月～平成 28 年 3 月

研究者: 齊藤 圭亮

### 1. 研究のねらい

藻類を利用したエネルギー生産においては、単一種の藻類だけが使用されるため、その種に固有の限られた波長の光だけしか利用できません。藻類にもっと広い帯域の光を吸収させ、そのエネルギーを有効に利用させることができれば、生産効率の向上が期待されます。そのためには色素や周辺の蛋白質の構造をチューニングし人為的に光吸収を制御する技術が重要です。本研究では、色素の吸収帯がどの波長にあり、それがどうして決まっていて、色素に吸収されたエネルギーは蛋白質内・蛋白質間でどのように伝達され、利用されているのかを蛋白質構造に基づいた理論解析により調べます。これにより、光吸収を制御するための残基の置換や色素改変の方向性を定めること目指します。

### 2. 研究成果

#### (1) 概要

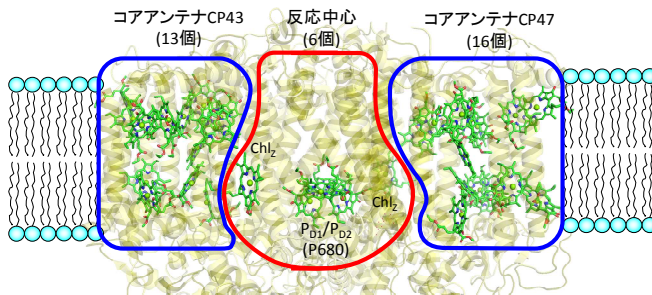
藻類や植物は太陽光を利用してエネルギーを作り出しています。そのために、光エネルギーを効率的に捉え、伝達し、利用するための様々なしくみが備わっています。本研究では蛋白質の構造に基づいた理論解析により、そのしくみの一端を分子レベルで明らかにすることに成功しました。藻類は蛋白質に含むクロロフィルなどの色素の「向き」と「かたち」を巧みに制御することで、吸収された光エネルギーを中心部に伝達し、水分解反応に利用していたのです。ここで得られた天然の藻類に対する新しい知見と、本研究で確立された理論解析法を藻類の人為的な制御へ応用することで、光合成を利用したバイオエネルギーの生産性をもっと高められる可能性があります。

#### (2) 詳細

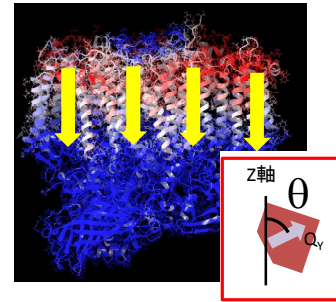
##### (A) 光化学系 II(高等植物・緑藻など)の光吸収とエネルギー伝達のしくみの解明

光合成で水分解・酸素発生を行っている光化学系 II 蛋白質では、全部で 40 個近いクロロフィル分子が埋め込まれており、これらのクロロフィル色素が協働してエネルギーを蛋白質の外側から中心部へ送っています。そのしくみを明らかにしました。それぞれの色素は、存在する場所によって膜に対する色素の「向き」を変えることによって光吸収エネルギーを調整していました。これにより、光エネルギーを蛋白質の外側から中心部へと流すしくみになっていることが分かりました。

(a) 光化学系 II の模式図



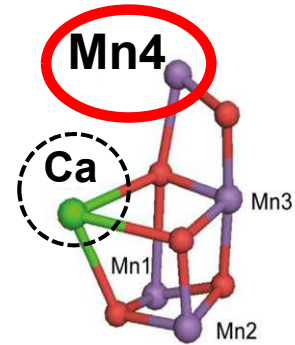
(b) 蛋白質が作る電場と色素の配向



光化学系 II に含む多数のクロロフィル色素(a)は蛋白質の作る電場と色素の配向(b)を利用して吸収波長制御を行うことで、エネルギーを中心に伝達していた。

(B) 水分解反応を実現するマンガン錯体のかたちの謎の解明

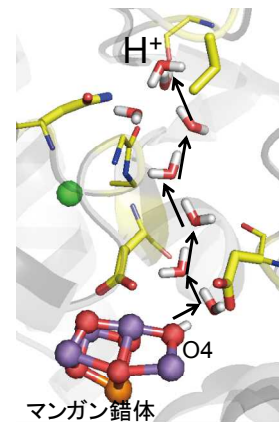
光化学系 II で中心部(反応中心)へ伝達されたエネルギーは、活性部位のマンガン錯体において、水を酸素とプロトンに分解されるために使われます。マンガン錯体は「歪んだ椅子」の形をしています。このかたちこそ水分解反応の要となっていて考えられていますが、その分子的な原因は明らかになっていませんでした。歪みの原因はマンガン錯体にカルシウム原子(Ca)が一つだけ含まれていることによるとの仮説もありました。しかし、蛋白質に対する量子化学計算を行ったところ、歪みの直接の原因は「椅子」の「台座」部位に存在する Ca ではなく、そこから離れた「背もたれ」部位に一つだけ存在するマンガン原子(Mn4)であることが明らかになりました[論文 3]。



マンガン錯体の「歪んだ椅子構造」の原因は Ca 原子ではなく Mn4 原子であった。

(C) 水分解反応におけるプロトン移動機構の解明

マンガン錯体では光のエネルギーを利用して水が酸素とプロトンに分解されます。このとき錯体上で放出されるプロトンは、後の反応を進めるために、蛋白質の外へと速やかに排出されます。このプロトンがどのようにして蛋白質の外部へと放出されるのか、プロトン放出機構とその通り道を明らかにしました。プロトンはマンガン錯体の近くから蛋白質の外へと続く「水分子の鎖」を通して排出されることが分かりました[論文 4]。この通り道は水分解の第一段階で使われると考えられ、第二段階以降ではまた別の通り道が利用されていると考えられています[論文 1, 2]。



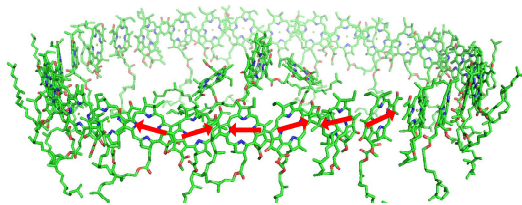
マンガン錯体で生成されたプロトン(H+)は水分子を通じて外へ排出される。

(D) LH1(紅色光合成細菌)の光吸収とエネルギー伝達

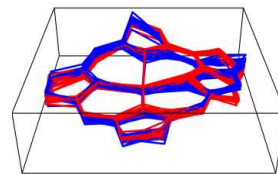
光化学系 II と共通の祖先を持つと言われる紅色光合成細菌の反応中心は、LH1 アンテナ

蛋白質に取り囲まれています。LH1も光化学系Ⅱと同様に多くのクロロフィルを持ち、光エネルギーを吸収し中心部へ伝達しています。そのしくみを光化学系Ⅱと比較しつつ調べました。光化学系Ⅱではクロロフィルの「向き」が重要でしたが、LH1について調べたところ、「向き」はすべての色素で同一であるにもかかわらず、吸収エネルギーは異なっていることがわかりました。このことから、光吸収エネルギーを決めるのに色素の「かたち」も重要な役割をしていることが明らかになりました。実際、個々の色素のかたちを解析してみるとそれぞれに異なったゆがみ方をしていました。LH1蛋白質は円環状の形をしています。中に細長い反応中心蛋白質が入っているため、よくみると楕円状にゆがんでいます。この例に端的に表れているように、LH1の中に存在する反応中心が非対称的な形をしていることが、円環状に配置されている個々の色素のかたちが異なっている原因でした。

(a) LH1における色素配置



(b) LH1に含む色素の構造の重ね合わせ



紅色光合成細菌の LH1 では、色素は対称的に配置されているためその向きはすべて同じであるが(a)、色素の形はそれぞれに異なっていた(b)。

以上のように、実際の光合成生物が利用している蛋白質は、クロロフィルなどの色素の「向き」と「かたち」を制御して、効率良く光のエネルギーを吸収・伝達し、利用していることが明らかになりました。それだけにとどまらず、そのエネルギーをどのように利用して水分分解反応を行っているのか、その第一歩まで明らかにすることが出来ました。

本研究で明らかになったこれらのしくみは光合成生物の進化の過程で得られたものです。したがって、光合成生物が「生きる」ために既に最適な設定になっていると考えられます。しかし、「生きる」ことに最適化された蛋白質であっても、「バイオエネルギーを生産する」という人工的な目的に対しては、必ずしも効率が良くなっているとは限りません。蛋白質内の色素の向きやかたち、水分子の有無などを人為的に改変することにより、光合成を利用したバイオエネルギーの生産性をもっと高められる可能性があります。

### 3. 今後の展開

本研究では、光合成蛋白質が光エネルギーを効率良く吸収・伝達するために利用している戦略を分子レベルで明らかにし、藻類の光エネルギーの吸収・伝達・利用を人為的に制御するための基礎的な知見を得ることが出来ました。これらはすべて理論解析により明らかになったことです。今後は、どのような変異を行えば効率を上げられるのかを理論的に予測するだけでなく、実際の藻類に対する実証研究も、実験研究者と協力して行っていきたいと思っております。

### 4. 評価

#### (1) 自己評価

(研究者)

本さがけ研究で当初より掲げていた目標は、色素の吸収帯がどの波長にあり、それがどうして決まっいて、色素に吸収されたエネルギーは蛋白質内・蛋白質間でどのように伝達され、利用されているのかを蛋白質構造に基づいた理論解析により調べるということです。さがけ研究費は主に理論解析を行うために必要な高速計算機とソフトウェアの購入に当てました。領域会議においてアドバイザーの先生方から助言を頂きつつ、その目標に向かって研究を行った結果、実際の光合成生物が利用している蛋白質は、クロロフィルなどの色素の「向き」と「かたち」を制御して、効率良く光のエネルギーを吸収・伝達し、利用していることを明らかにすることができました。さらに、そのエネルギーをどのように利用して水分解反応を行っているのか、全部で4段階からなる水分解反応の第一段階を明らかにすることが出来ました。このような成果を得られたことから、当初の研究目標をほぼ達成できたと言えるのではないかと考えています。今後は、本研究から得られた天然の藻類に関する知見を活かすことで、光吸収を制御するための残基の置換や色素改変の方向性を提示していきたいと考えています。これには実験研究者との協力が欠かせませんが、幸いこのさがけ領域に参画出来たおかげで、さがけだけでなくCREST領域に属する実験研究者との人脈を得ることができました。この人脈を最大限に利用し、実際の藻類で私の理論研究の成果を実証することが次の目標です。これを実現し、本さがけ研究の成果を実際の社会に還元できたらうれしく思っています。

(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。)

当初設定した研究のねらいに則して、色素の吸収帯がどうして決まっいて、色素に吸収されたエネルギーはどのように伝達されているのかを明らかにするという研究目的をほぼ達成した。さらに、その先の光エネルギーを利用した水分解過程の解明にまで研究の段階を進めている。理論解析という手法で藻類の光エネルギー利用のしくみにせまることが出来た本研究の成果は大変画期的であり、科学技術への波及効果は大きい。また、研究成果をハイインパクトな学術雑誌で論文発表している点も高く評価できる。

本研究で培われた理論解析手法は応用範囲が広いため、この分野だけにとどまらず生体を対象とした分子科学に関するさまざまな分野において役立てることができ、今後、研究成果がどのような方向に展開されるのか大いに楽しみである。

研究者として、採用時はJSTの専任研究者としての参画であったが、現在、東京大学先端科学技術研究センター講師へと昇任し、研究者としての大きな飛躍につながった。今後は、本研究分野の若手のトップランナーとしてさらなる活躍を期待している。

## 5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

- |  |
|--|
| 1. K. Saito, A. W. Rutherford, H. Ishikita 2013 <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 110, 7690-5. |
| 2. H. Ishikita, K. Saito 2013 <i>J. R. Soc. Interface</i> , 11, 20130518.                        |

3. K. Saito, H. Ishikita 2014 *Biochim. Biophys. Acta*, 1837, 159–166.

4. K. Saito, A. W. Rutherford, H. Ishikita 2015 *Nat. Commun.*, 6:8488.

(2)特許出願

研究期間累積件数:0件

(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)

受賞:

「日本物理学会若手奨励賞」2014年3月

プレスリリース:

1. 「光合成酸素発生反応で利用される蛋白質内のプロトン移動経路を発見」

(京都大学、2013年4月16日)

[http://www.kyoto-u.ac.jp/static/ja/news\\_data/h/h1/news6/2013/130416\\_1.htm](http://www.kyoto-u.ac.jp/static/ja/news_data/h/h1/news6/2013/130416_1.htm)

2. 「光合成の中核をなす「歪んだ椅子」構造の謎をついに解明」

(大阪大学、2013年10月15日)

[http://www.osaka-u.ac.jp/ja/news/ResearchRelease/2013/10/20131015\\_1](http://www.osaka-u.ac.jp/ja/news/ResearchRelease/2013/10/20131015_1)

3. 「光合成水分解反応初期に利用される水素イオン移動経路を解明」

(東京大学、2015年10月7日)

[http://www.rcast.u-tokyo.ac.jp/pressrelease/pdf/271007release\\_rcast.pdf](http://www.rcast.u-tokyo.ac.jp/pressrelease/pdf/271007release_rcast.pdf)

主要な学会発表:

Keisuke Saito, “Mechanism of Long-Distance Proton Transfer in Photosynthetic Protein”, the Seventh Asia-Pacific Conference of Theoretical and Computational Chemistry (APCTCC 7), 2016年1月、高雄、台湾、招待講演