

ナンキョクカワノリに見つかったアップヒル型励起エネルギー移動による赤外線利用型光合成メカニズム

小杉真貴子¹, 川崎政人², 柴田穰³, 安達成彦², 守屋俊夫², 千田俊哉²

¹自然科学研究機構 基礎生物学研究所, ²高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所, ³東北大学 大学院理学研究科

Infrared driven photosynthesis including uphill excitation energy transfer in *Prasiola crispa*

Makiko KOSUGI¹, Masato KAWASAKI², Yutaka SHIBATA³, Naruhiko ADACHI²,
Toshio MORIYA², Toshiya SENDA²

¹National Institute for Basic Biology, National Institute of Natural Sciences,
²IMSS, High Energy Accelerator Research Organization, ³Graduate School of Science, Tohoku University

Abstract

ナンキョクカワノリは大型の気生緑藻で、可視光が少なく赤外線が卓越する環境で赤外線の一部を集光するタンパク質 (Pc-frLHC) を発現し、赤外線で光合成を行うことが明らかになった。Pc-frLHC の分光学的解析と構造解析から、Pc-frLHC に結合する 3 量体のクロロフィルが赤外線を吸収し、アップヒル型の励起エネルギー移動により周囲のバルククロロフィルを励起していることが示唆された。

1. はじめに

植物が行う光合成は光エネルギーを利用して水と二酸化炭素から糖や炭水化物を合成する反応で、この時利用される光は主に可視光 (400~700 nm) である。太陽光に含まれる赤外線は、可視光よりエネルギーが低いいため酸素発生型光合成を駆動することができないと考えられてきた。しかし近年、赤外線の中でも可視光の波長に近い遠赤色光を利用した光合成を行う生物が複数報告されている [1-3]。ナンキョクカワノリもそのひとつで、その名の通り南極に生育する藻類である [4]。私達はナンキョクカワノリの細胞が遠赤色光領域に顕著な吸収帯を持つ光捕集アンテナタンパク質を発見し、これを Pc-frLHC (*Prasiola crispa* far-red absorbable chlorophyll binding protein complex) と名付けた [5]。Pc-frLHC に吸収された遠赤色光のエネルギーは、アップヒル型の励起エネルギー移動により可視光のエネルギーレベルにあるクロロフィルを励起することで光化学系 II 反応中心複合体を励起することが示唆されている。

2. 赤外線による光合成の何がすごいのか

今から 27 億年ほど前に地球に誕生したシアノバクテリアが開始した酸素発生型光合成は、光エネルギーを利用して水を分解し、そこで得られた還元力で二酸化炭素を糖や炭水化物として固定する反応である。水の酸化還元電位は +0.86 V 程度であり、酸化還元電位が低い二酸化炭素を直接還元することはできないが、酸素発生型光合成生物は、光化学系 I と光化学系 II タンパク質複合体による 2 回の光励起反応により低い酸化還元電位を持つ分子の励起

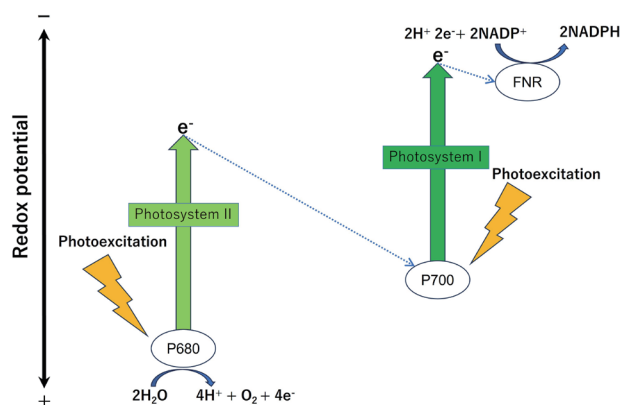


Figure 1 Electrons derived from water molecules are used for CO₂ fixation, by photoexcitations in photosystem II and photosystem I.

状態を生成することでこれを解決している (Fig. 1)。

光化学系 II は光励起による電荷分離反応で水を分解し電子とプロトンを電子伝達系に供給する。光化学系 I は電荷分離反応で光化学系 II が供給した電子を、光エネルギーを使って二酸化炭素を固定するための電子供与体へと伝達する。光励起に用いられるエネルギーは波長 400-700 nm の可視光である。特に光化学系 II の反応中心は 680 nm に相当する赤色光で励起されるため、それよりも低いエネルギーの長波長光では励起効率が著しく減少することが知られている。しかし、ナンキョクカワノリの細胞を使った光合成活性の光波長依存性の測定から、遠赤色光の吸収帯に吸収された光子が光化学系 II 反応中心を励起する効

率が可視光の場合と同等であることが示唆されている [4]。そこで私達はナンキョクカワノリが遠赤色光で効率よく光合成を行う仕組みを明らかにすることを目指し解析を行った。

3. 南極での生態

ナンキョクカワノリは大型の気生緑藻で南極の海岸線に点在する露岩域（氷河が後退して岩盤が剥き出しになっている地域）に広く分布し、陸上環境に大きなコロニーを形成することで知られている（Fig. 2）。1個体は一層の細胞が二次元に広がったシート状の形態をしており、コロニーは藻体が多数重なって5 mmほどの厚さにまで発達する（Fig. 2C）。昭和基地から一番近い観測地点は20 kmほど離れたラングホブデの四つ池谷にあり、沿岸の観測小屋から歩いて40分程度、切り立った崖に挟まれた狭い谷に入っていくと夏の間は南極で営巣するユキドリ（ユキドリ）の営巣地に鮮やかな緑色のナンキョクカワノリコロニーが見つかる。2012年12月末にこの観測点へ行った際は積雪がコロニーの半分ほどを覆っていたが、翌年2月までに雪は消失し藻体は一部乾燥状態になっていた。藻体は乾燥にも凍結にも耐えられるため、夏の乾燥と冬の凍結を繰り返しながら、時間をかけてゆっくりと成長していくと考えられる。

厚さが5 mmほどに発達したコロニーの内部環境は、表層の細胞と大きく異なっている。直射日光に晒される表面に対して、内部環境は上層の細胞が可視光を吸収するため赤外線（赤外線）の相対的な割合が非常に大きくなる。コロニーを上層、中層、下層と3つにスライスし、それぞれの吸収スペクトルを測定すると遠赤色光の吸収帯は上層、中層、下層

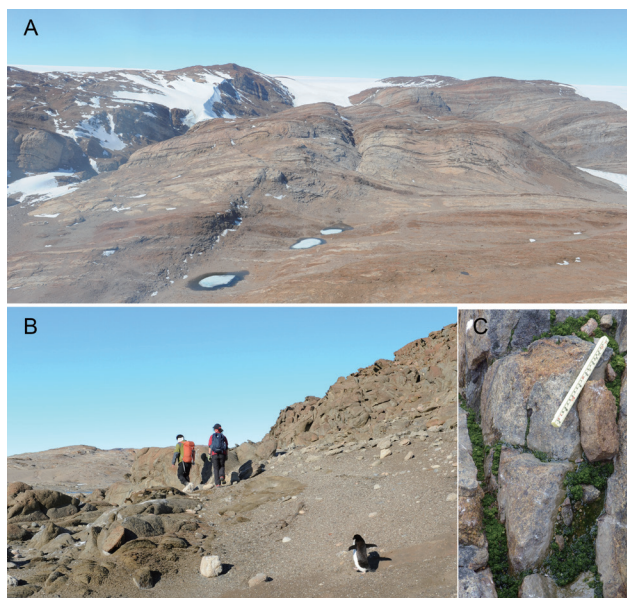


Figure 2 Photographs of terrestrial habitats in Antarctica.
A: An exposed rocky area, Langhovde, near the Syowa station. B: Members of Antarctic research expedition and an adelic penguin walking at exposed rocky area. C: Colonies of *Prasiola crispa*. The length of the scale is about 8 cm.

の順に発現量が増えていた。このことから、Pc-frLHCは可視光が少なく赤外線の割合が多い環境で発現し、光合成生産量の増加に寄与していると考えられた [5]。

4. 遠赤色光吸収アンテナタンパク質 Pc-frLHC の精製と分光学的解析

ナンキョクカワノリの遠赤色光利用型光合成機構の詳細を明らかにするため、Pc-frLHCを精製し分光学的な解析を行った [5]。最終的に精製したPc-frLHCは一般的な光合成生物がもつクロロフィルaとbの吸収帯に加えて708 nmにピークを持つ遠赤色光吸収帯を示した。色素分析の結果、クロロフィルはaとb以外に検出されなかったことから遠赤色光の吸収帯はクロロフィルaの吸収が長波長にシフトしたものであることが示唆された。クロロフィルの骨格であるポルフェリン環は2分子が接近することで $\pi\pi$ スタッキングを形成し、電子軌道が安定化することで吸収が長波長シフトすることが知られている。

分光学的解析において、740 nmのレーザーパルス光でPc-frLHCに結合する長波長クロロフィルを励起し、可視光に吸収を持つクロロフィルの蛍光（680 nm）を観測することでアップヒル型の励起エネルギー移動を測定した結果、25 psの時定数で長波長クロロフィルとバルククロロフィルの間のエネルギー移動が平衡状態となった。このことから、アップヒル型の励起エネルギー移動はPc-frLHC内で起こり、可視光のエネルギーに変換された後に光化学系IIへ伝達されていることが示唆された。

5. 構造解析

Pc-frLHC内で起きているアップヒル型の励起エネルギー移動の詳細を明らかにするためには、Pc-frLHCの3次元構造解析を行いクロロフィルの立体配置を明らかにする必要があった。研究を開始した当初は、タンパク質のX線結晶構造解析が主流で解析のために多量の生物試料が必要であったため、南極から採集したサンプルを使ってなど不可能だと思われた。しかし、クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の構造解析技術が発展し、少量のサンプルで結晶化をせずに解析することが可能となった。私達は国内の生命科学・創薬研究支援基盤事業（BINDS）を通して、2019年度に高エネルギー加速器研究機構でクライオ電子顕微鏡による単粒子解析を行い、3.13 Åの分解能でPc-frLHCの構造を解くことに成功した（Fig. 3） [5]。

Pc-frLHCはホモ11量体のリング構造で、1つのサブユニットは4回膜貫通型でそれぞれ11個のクロロフィルと2個のカロテノイド（ロロキササンチンとピオラキササンチン）が結合していた。

長波長クロロフィルを特定するため、各クロロフィル間の励起子相互作用を計算した結果、3量体といえる構造をとるクロロフィルが各サブユニットに見つかった。この3量体クロロフィルは隣のサブユニットに結合するクロロフィルとも相互作用し、さらに多量体構造を取っていることが示唆された。

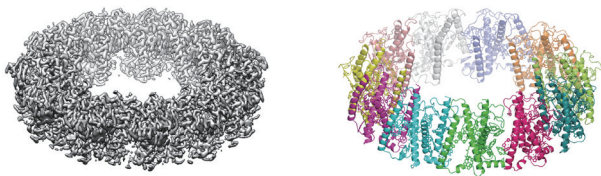


Figure 3 The cryo-EM map (left) and the 3D structural model of Pc-frLHC (right).

アミノ酸配列から近縁のタンパク質を検索した結果、クラミドモナスなどの緑藻で報告されている光化学系I反応中心複合体の光捕集アンテナタンパク質 (LHCI) のひとつで4回膜貫通型のものに最も近縁であることが分かった。この4回膜貫通型のLHCIとPc-frLHCの立体構造を比較すると結合するクロロフィルのうちの1つの位置がずれており、Pc-frLHCではこのクロロフィルが他の2量体クロロフィルと接近して3量体構造をとっているのに対し、4回膜貫通型LHCIではクロロフィルの3量体構造は見られなかった。4回膜貫通型のLHCIはLHCIの中では長波長の吸収を持つとされているが、赤外線にはほとんど吸収が伸びない。このことから、Pc-frLHCは4回膜貫通型のLHCIのクロロフィルの結合位置が変化することで更に長波長を吸収するように進化したと考えられた。

6. 今後の課題

構造解析から、遠赤色光を吸収するクロロフィルが推定された。しかし、アップヒル型の励起エネルギー移動がダウンヒル型と同等の効率で生じることの説明はまだできていない。クロロフィル間のエネルギー移動について理論的に論じるためには、クロロフィルの正確な同定が必要だが、現在得られている分解能ではクロロフィルaとbの区別ができないため、更に高分解能の解析を行う必要がある。また、Pc-frLHCがエネルギーを伝達しているはずの光化学系IIがPc-frLHCとどのように結合しているのかも知見が無い。今後、Pc-frLHCが結合した状態の光化学系IIを精製し、分光学的解析と構造解析を行うことを目指している。

謝辞

本稿で紹介した研究は、秋田県立大学の原光二郎博士、東京農業大学の高市真一博士、基礎生物学研究所の亀井保博博士、兵庫県立大学の菓子野康浩博士、国立極地研究所の工藤栄博士、中央大学の小池裕幸博士との共同研究として行われたものである。本研究の一部は日本学術振興会の科研費 (17K19431, 19H03187), 住友財団 (no. 151376), AMED の BINDS (No. JP20am0101071 and 22ama121001, supporting no. 1649) より助成を受けている。

引用文献

- [1] C. Wilhelm and T. Jakob, *Photosynth. Res.* **87**, 323 (2006).
 [2] Y. Fujita and K. Ohki, *Plant Cell Physiol.* **45**, 392 (2004).
 [3] H. Miyashita *et al.*, *Nature* **383**, 402 (1996).

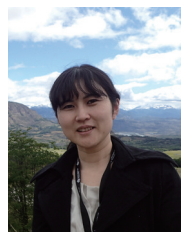
[4] M. Kosugi *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **1861**, 148139 (2020).

[5] M. Kosugi *et al.*, *Nature Communications* **14**, 730 (2023).

(原稿受付日: 2023年9月27日)

著者紹介

小杉真貴子 Makiko KOSUGI



自然科学研究機構 基礎生物学研究所
環境光生物学研究部門 特任助教

〒444-8585

愛知県岡崎市明大寺町西郷中38

e-mail: mkosugi@nibb.ac.jp

最近の研究: 南極や北極に生育する光合成生物の適応戦略の解明

川崎政人 Masato KAWASAKI



高エネルギー加速器研究機構

柴田穰 Yutaka SHIBATA



東北大学 大学院理学研究科化学専攻
准教授

〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻
青葉6番3号

e-mail: shibata@m.tohoku.ac.jp

最近の研究: 顕微分光法による光合成の調節機構の解明, 光合成タンパク質複合体の単一分子分光。

安達成彦 Naruhiko ADACHI

高エネルギー加速器研究機構

守屋俊夫 Toshio MORIYA

高エネルギー加速器研究機構

千田俊哉 Toshiya SENDA

高エネルギー加速器研究機構