



光合成タンパク質一つ一つを見る

東北大学 柴田 穂

分子 1 個を観測する単一分子イメージング、単一分子分光という手法は、1990 年頃から様々な分子を対象にして広がってきた。単一分子からの蛍光検出は、ターゲットとなる分子の濃度を非常に薄くしてレーザーの焦点スポット(直径 1 μm 以下)中に分子が 1 個以下しか存在しない条件にすることで実現される。高性能の対物レンズなどを使ったりエバネッセント光による励起で背景光を抑える工夫をしたりすることで、たまたまレーザー焦点スポットに分子がいる場合にその分子だけからの蛍光信号が検出される。人間のスケールから見れば、何の変哲もない色素溶液でも、一つ一つの色素分子にとっては周囲の溶媒分子が絶えず衝突してきて激しくエネルギーをやり取りする、ダイナミックな世界である。単一分子の蛍光を測定することで、このようなダイナミックな様相が実際に観測できるようになった。

光合成タンパク質の単一分子分光も 1990 年代中に最初は極低温において、後には室温でも実現された。最初のターゲットは、紅色光合成細菌のアンテナ系である LH2 であった。LH2 は、バクテリオクロフィル分子がリング状に並んで美しい対称構造を作っていることで有名である。LH2 の吸収スペクトルは、それぞれ 800 nm と 850 nm 付近にピークを持つ二つのバンド B800 と B850 により特徴づけられる。単一分子分光の研究から、液体ヘリウム温度という極低温にも関わらず、単一の LH2 のスペクトルは時間とともに揺らぐこ

とが見出された。スペクトルの揺らぎは、規則正しく並んだ複数の色素分子に広がった B850 の励起状態が、タンパク質のコンフォメーション変化により色素間の相互作用強度が変化したり、励起エネルギーが変化したりすることによると解釈されている。

光合成反応中心タンパク質における単一分子蛍光分光を実現するには、電荷分離反応の収率が低くなり蛍光収率が増加する極低温での測定が必要となる。我々は、光化学系 I(PSI)の単一分子分光を初めて 80 K 付近で行い、蛍光強度の揺らぎが観測されることを報告した[1]。単一 PSI の蛍光スペクトルを 200 秒間観測し続けると、強度とピーク位置が時間とともに揺れているのが観測された。このようなスペクトルの時間変化は、吸収された光エネルギーが高効率に反応中心 P700 へ流れて消光される暗状態と、P700 には至らずに蛍光として放出される明状態との間を行ったり来たりしていることに対応する。

現在、単一分子分光を使った新たな挑戦として、ハイスループット単一分子分光プロジェクトを立ち上げようとしている。一つの分子が見られるのなら、もはやタンパク質の精製はすっ飛ばしてしまおう、という発想である。植物の組織に含まれる光合成タンパク質丸ごと全部を希釈して一つ一つの分子のスペクトルを調べるというアプローチで、様々なストレス下に蓄積する、一部損傷していたり構造構築途上にあたりする光合成タンパク質を見出すことを狙っている。こうした成分は非常に稀にしかないと考えられるが、1 万個程度の多数の個々の光合成タンパク質を観測することで、稀にしかないとストレス誘導成分を同定したい。

[1] J. Sankar et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 2019, **1860**, 30-40.