

## 光合成細菌の光化学系と分子構成

Photosystem and molecular composition in photosynthetic bacteria

小 林 正 美\*・渡 辺 正\*

Masami KOBAYASHI and Tadashi WATANABE

光合成器官は極めて効率の高い光→化学エネルギー変換を行う分子複合体とみなすことができ、その分子機構の解明は生物学・化学境界領域における大きな研究の柱である。本稿では、最も原始的な光合成生物である光合成細菌をとりあげ、より高等な生物と対比しつつその分子構築に関する研究の現状を概観し、あわせてこの領域で最近われわれが行っている研究を簡単に紹介する。

## 1. は じ め に

太陽光を用いて化学合成を行う、すなわち光エネルギーを化学エネルギーに変換する生物を光合成生物と呼ぶ。光合成はクロロフィル（葉緑素）などの色素の光励起に始まり、最終産物として有機化合物を与える。その初期過程すなわち光過程は、多段階の分子間電子伝達を介しながら量子収率100%の光子変換を実現している。なかでも光エネルギー→電子エネルギー変換の核となる反応中心は超高速（1ピコ秒程度）の分子素子である。したがって、光合成の仕組みを分子レベルで解明することにより、高効率・超高速の光分子デバイスの設計・開発に重要な指針がもたせられると期待できる。近年、ドイツのMichelらは光合成細菌の反応中心複合体を結晶化し、そのX線解析から分子構築の一端を解明した。周知のごとくこの成果に対し1988年度ノーベル化学賞が授与された。

本稿では最もシンプルな光合成系を有する光合成細菌に注目し、光合成色素の種類、光化学系と分子構成および他の光合成生物との関係について概観し、この分野でわれわれが取り組んでいる計測化学的アプローチの一部を紹介させていただく。

## 2. 光合成生物と光合成小器官

## 2.1 光合成生物の系統分類

光合成器官の生化学的特徴は生物種により大きく異なる。また、生物進化における光合成生物の出現および光合成器官の進化については今のところ定説がなく、さまざまな議論がなされている<sup>1)</sup>。

光合成生物の系統分類の一例を図1に示す。原始地球で非生物的に合成された有機物の発酵でエネルギーを獲得していた発酵型細菌は、有機物の枯渇に伴い生存の危機に直面した。そこで新たなエネルギー源を地球に降り注ぐ太陽光に求め、約35億年前に最初の光合成生物が誕

生したと想像される。原始的な細菌型光合成から酸素発生型光合成へと進化したのがシアノバクテリア（ラン藻）で、その出現により大気中に酸素が蓄積していった。

酸素発生型光合成生物の出現は、地球上の生物進化に大きな影響を与えた。すなわち、ある種の生物は酸素を利用して有機物からエネルギーを獲得するという、発酵よりも格段に効率のよい酸素呼吸系を獲得した。また酸素の一部は紫外線によってオゾンとなり、大気上層部に蓄積した。オゾン層により有害な紫外線がしゃへいされ、生物は陸上に進出して進化を遂げた。真核植物では葉緑体（クロロプラスト）と呼ばれる5μm程度の大きさの細胞内小器官（オルガネラ）で光合成が行われている。

## 2.2 光合成器官の形態

光合成器官として形態的に最も原始的なものが光合成細菌にみられる（図2）<sup>2)</sup>。光合成細菌では核や葉緑体が

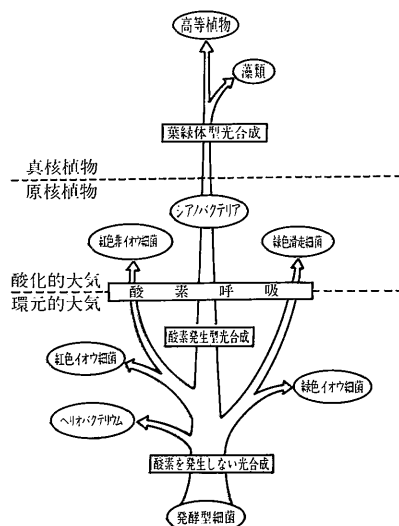


図1 光合成生物について考えられている系統樹の一例

\*東京大学生産技術研究所 第4部

分化しておらず、細胞膜（内膜）に光合成色素、光化学反応中心、電子伝達系が存在する。なかでも緑色イオウ細菌は最も単純な形態をしており、細胞膜はほとんどくびれていない（詳細は4.3）。これに対し、紅色細菌の細胞内膜系は複雑にくびれ、菌種によっても形状が異なるが、図2のような小胞状や平板状のほか、円筒の束状などさまざまな形態をとりクロマトフォアと呼ばれている。

原核植物でも、シアノバクテリアになると細胞内膜ではなく光合成のための独立した膜系（チラコイド：ギリシア語で「小袋のような」）を持つようになり、ある種のものでは、細胞内は透き間なくチラコイドによって埋められている。

真核植物においては、シアノバクテリアのチラコイドが他の膜で包まれた独立した小器官、葉緑体出現する。一般に、細胞あたり藻類では1～100個の、高等植物では50～200個の葉緑体が存在する。多くの高等植物では直径4～6  $\mu\text{m}$ 、厚さ2～3  $\mu\text{m}$ 程度の凸レンズ型である。これはシアノバクテリアの大きさとほぼ同じで、葉緑体の起源を考える上で興味深い（後述）。藻類では形や大きさが多様で、図2の形状のほか平板形、らせん形、星形、杯形などがある。藻類の中で最も簡単な膜系を有するのが紅藻類で、チラコイドは重なっていない。褐藻、緑藻、高等植物になるにしたがって、チラコイドは多重層の膜系となる。

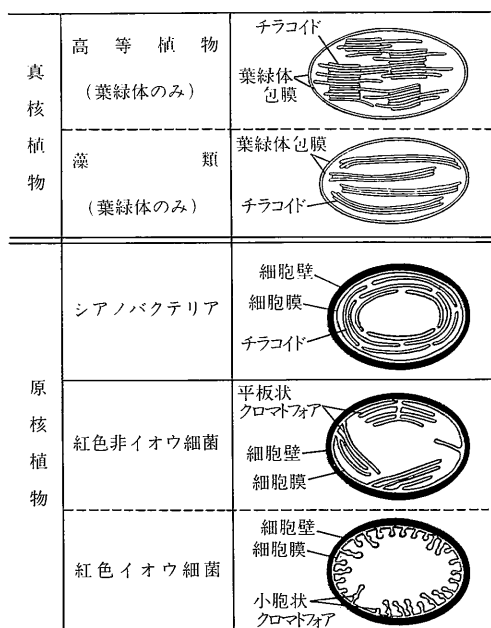


図2 原核植物および真核植物の光合成器官の形態  
原核生物では細胞全体を、真核生物では葉緑体のみを図示（文献2）より改写）

このように光合成膜の構造は、光合成細菌のような単純な膜系から高等植物のような複雑な多層膜系へと系統的に発達・分化したことがわかる。

### 3. 光 合 成 色 素

#### 3.1 光合成色素の種類

光エネルギーの吸収、反応中心への伝達、および光化学過程に関与する色素を光合成色素という。光合成色素としてはクロロフィルを中心に多くの種類があり、光合成生物の系統と色素の分布とは密接に関係している。

すべての光合成生物は少なくとも1種類のクロロフィルをもつ。酸素発生型の植物はすべてクロロフィル *a* (Chl *a*) を含み、非酸素発生型の植物はすべてバクテリオクロロフィル *a* (BChl *a*, まれにBChl *b*またはBChl *g*のみ)を含む。クロロフィルの大半は光エネルギーの捕集・伝達を担うアンテナ色素で、残りのごくわずか(1%内外)が光化学反応の開始部位(反応中心)で機能している。クロロフィル以外の色素の大部分もアンテナ色素で、反応中心へのエネルギー伝達のみを行う。

#### 3.2 クロロフィル

クロロフィルは光合成において最も中心的な役割を持つ色素で、地球上に最も大量に存在する有機金属錯体である。BChl *a*とChl *a*の構造を図3に示す。BChl *a*は環IIとIVが還元されたバクテリオクロリン（テトラヒドロポルフィリン）を、またChl *a*は環IVが還元されたクロリン（ジヒドロポルフィリン）を基本骨格としている。バクテリオクロリンを核とするものにBChl *a*, *b*, *g*が、クロリンを核とするものにChl *a*, *b*とBChl *c*～*e*がある。BChl *c*～*e*がクロリンを骨格としながらBChlと呼ばれるのは、これらが光合成細菌にのみ存在するからである。またポルフィリン環を骨格とするものにはChl *a*, *c*およびプロトクロロフィルがある。

クロロフィルは主に可視域に強い吸収帯を持っている。例としてBChl *a*とChl *a*のエーテル中での吸収スペクトルを図4に示す。クロロフィルは生体中では構造タンパク内に配位結合により固定されて組み込まれており、図4とは異なるスペクトルを与える。たとえば図5(A)は

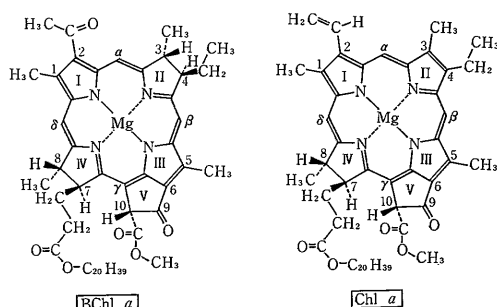


図3 バクテリオクロロフィル (BChl) *a*とクロロフィル (Chl) *a*の構造式

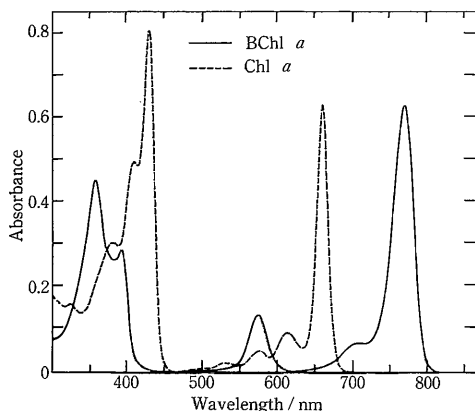


図4 BChl aとChl aのエーテル溶液の吸収スペクトル

BChl aからなる光合成細菌の吸収スペクトルであるが<sup>3)</sup>, 2種類のアンテナタンパク中のBChl a (B800とB850) の遠赤外吸収帯は、有機溶媒中に比べ著しく長波長側シフトしている。

クロロフィルの生合成経路の解明は、動物でのヘムの生合成の研究に大いに依存しており、両者はプロトポルフィリンまで共通の経路をたどる(図6)。ここまでの経路に関する研究はまず動物について行われ、次にその知見が植物で証明される形をとってきた。Mg-プロトポルフィリン以降の生合成過程については、反応に関与している酵素の正体が不明など未解決部分が多い。現在、特に不明な点が多いBChl類の生合成過程に関しては、変異株が培地中に放出する反応中間体から合成経路を推定するという方法が主に用いられている。

### 3.3 カロチノイド

カロチノイドは長鎖ポリエン誘導体でイソプレノイド構造を持つ。通常C<sub>40</sub>のテトラテルペンであるが、長さの異なるものもある。吸収帯は400~500nm付近にあり、黄橙色を呈する。クロロフィル型色素としてBChl aしか含

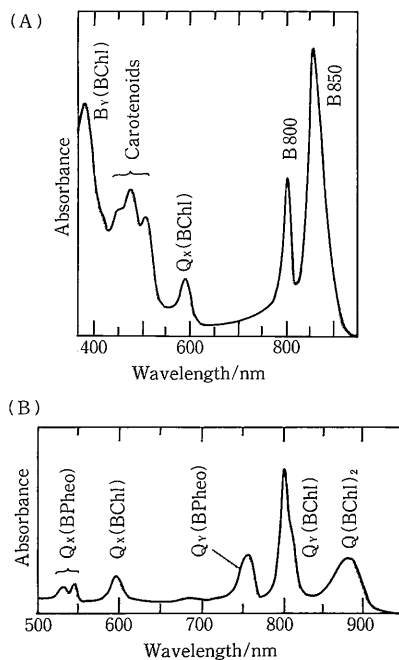


図5 紅色光合成細菌の吸収スペクトル

(A) *Rb. capsulata*の細胞全体(文献3)より改写)

(B) *Rb. sphaeroides*の反応中心(5K)(文献8)より改写)

まないとすれば、可視光を有効に利用できない(図4参照)。そのため紅色細菌はアンテナ色素として大量のカロチノイドを有し、鮮黄橙色を呈する。綠色細菌はBChl aのほかに、Chl a型の吸収特性を持つBChl c~eをアンテナ色素として含むため、カロチノイドの含有量が少なく菌体は青緑色を呈する。

カロチノイドはアンテナ色素として機能するだけではない。励起一重項クロロフィルからのエネルギー移動と電子移動はほぼ100%の効率で速やかに起こるが、これらがならかの原因(たとえば強光)によって支障をきたすと、励起一重項のクロロフィルは三重項への項間交差を起こす。三重項状態のクロロフィルは寿命が長く、化学反応を起こしやすい。酸素と反応した場合は生体に有害な一重項酸素を発生する。カロチノイドはこの一重項酸素と速やかに反応して生体を保護する。

### 3.4 フィコビルン

フィコビルンは開環テトラピロール色素で、クロロフィルとカロチノイドに次ぐ第三の色素としてシアノバクテリアおよび藻類の一部に分布している。クロロフィルやカロチノイドの光吸収が少ない500~600 nm域の光を有効利用するためのアンテナ色素で、フィコビリソームと呼ばれる大きな構造体の中に組み込まれている。フィコビルンの生合成は、Fe-プロトポルフィリン(図6参照)の酸化的開環によって進むと考えられている<sup>4)</sup>。

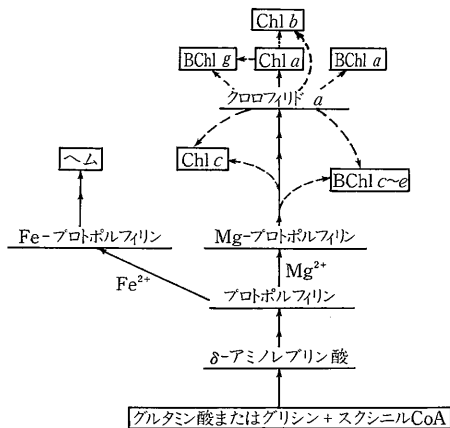


図6 クロロフィルとヘムの生合成経路

## 4. 光 化 学 系

## 4. 1 光化学系と反応中心

アンテナ色素が捕集したエネルギーは分子間エネルギー移動によって反応中心 (RC: reaction center) に伝達され、化学過程を開始する駆動力となる。反応中心を核とする化学反応系を光化学系と呼ぶ。光化学系の機能は光電荷分離による酸化生成物 ( $O_2$  など)・還元生成物 (NADPH など) の形成と、膜を介したプロトン濃度勾配の形成である。この濃度勾配は ATP 合成の駆動力となる。

反応中心はその構造と反応の性格から大きく 3 つに分類される。

## (1) 紅色細菌型反応中心

紅色細菌, 緑色滑走細菌

## (2) 緑色イオウ細菌型反応中心

緑色イオウ細菌, ヘリオバクテリウム

## (3) 反応中心 I + 反応中心 II

シアノバクテリア, 藻類, 高等植物

このうち、構造と機能が最もよく判明されているのが (1) の紅色細菌型の反応中心である。

## 4. 2 紅色細菌

1982 年に Michel<sup>9)</sup> は紅色非イオウ細菌 *Rhodospseudomonas viridis* の反応中心タンパク複合体の結晶化に成功した。得られた結晶 (0.4 mm × 0.4 mm × 1 mm 程度) を 1984 年に X 線解析の大家 Deisenhofer らとの共同研究により分解能 3 Å で構造解析した<sup>9)</sup>。これによりそれまでペールにつつまれていた反応中心の立体構造および電子伝達成分の種類、個数、配向がはじめて明らかにされた。彼らの業績は光合成の仕組みの一端を解明しただけではなく、多くの生物機能を理解するための強力な方法論を確立したものと高く評価された。この細菌は紅色細菌としては特殊で、BChl *a* ではなく BChl *b* を有している。Michel らの手法をアメリカの Chang<sup>7)</sup> が紅色細菌としては最もポピュラーな *Rhodobacter sphaeroides* に適用し、その X 線解析から両者の基本構造がほぼ同じであることを示した。*Rb. sphaeroides* の形態と反応中心の構成を図 7 に示す。

紅色細菌の光合成系は細胞内膜に存在する。反応中心は 3 種のポリペプチドからなり、その中に BChl *a* が 4 分子, BPheo *a* が 2 分子, キノン (Q) が 2 分子, 二価の鉄イオンが 1 個, カロチノイドが 1 分子 (図では省略) 組み込まれている。反応中心は高速分光測定や ESR 測定などによって間接的に BChl *a* の二量体であると予想されていたが、X 線解析によってこれが確認されたことになる。また BPheo *a* (バクテリオフェオフィチン *a*) は BChl *a* の  $Mg^{2+}$  が 2 個の  $H^+$  で置換された色素で、従来 BChl *a* の分解産物ではないかと疑われていたが、反応中心において重要な機能をもつ必須成分であることがわかる。2

つの BPheo *a* の置かれている環境は異なり、反応中心の低温での吸収スペクトルでは、BPheo *a* の  $Q_A$  吸収帯は 2 本 (530 nm と 545 nm) に分裂する (図 5 (B))。このうち光照射に伴う吸光度変化が生じるのは 545 nm 成分のみで、530 nm 成分は電子伝達に関与しない<sup>8)</sup>。反応中心に存在する  $Fe^{2+}$  は  $Q_A$ ,  $Q_B$  に適当な電場を与えて、両者間の電子伝達を促進するらしい。2 電子還元された  $Q_B$  は細胞質の 2 個の  $H^+$  をペリプラズミック・スペースに輸送する (Q サイクル)。電子を放出して酸化状態となった (BChl)<sub>2</sub> は水溶性のシトクロム (Cyt) *c* によって還元され基底状態に戻り、再び光酸化される。

紅色細菌では一般に 2 種のアンテナタンパク (LH I & LH II) が存在し、BChl *a* とカロチノイドが含まれている。各色素-タンパク複合体の吸収極大の位置がおおよそ 800 nm と 850 nm (LH II, 図 5 (A) 参照) と 875 nm (LH I) に存在することから、それぞれ B800-850 複合体および B875 複合体と呼ばれる。

B800-850 複合体は B875 複合体に比べ安定で、純粋な標品が得やすく、結晶化も行われているが、X 線解析に耐えるサイズの結晶はまだ得られていない。しかし、精製標品の吸収、発光、円偏光二色性スペクトルなどから、このタンパク複合体の最小ユニットは 4 個のポリペプチド ( $\alpha_2\beta_2$ ) からなり、6 個の BChl *a* と 4 個のカロチノイ

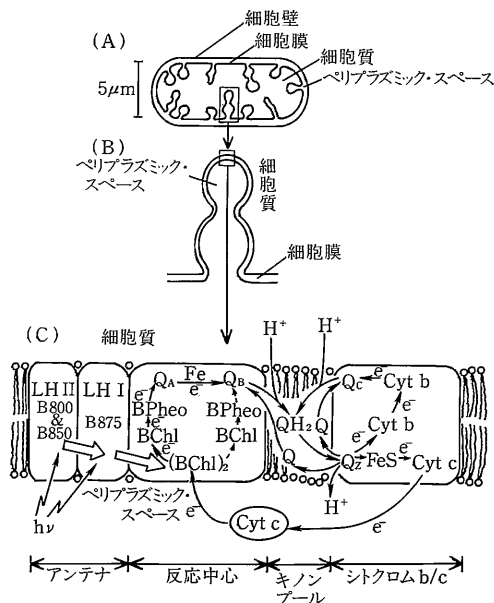


図 7 紅色細菌の光化学系

(A) 細胞全体 (B) 細胞膜の一部 (C) 光化学系のモデル図 (文献 3) より改写

LH I, II: アンテナ複合体, B800-850, B875: アンテナ色素, Q: キノン,  $QH_2$ : ハイドロキノン, Fe: 非ヘム鉄 (II) イオン, FeS: 鉄-硫黄クラスター, Cyt: シトクロム

ドが含まれ、このうち 4 個の BChl *a* が B800 の、また 2 個の BChl *a* が B850 の吸収帯に寄与し、おそらく前者は単量体の状態で、また後者は二量体を形成していると推定されている<sup>9)</sup>。B875 も 2 種のポリペプチドから構成され、最小ユニットは 2 個の BChl *a* と 1 個のカロチノイドを含み、BChl *a* は二量体だと考えられている<sup>10)</sup>。反応中心あたりの BChl *a* の個数は菌種や生育環境にもよるが 40~300 程度である。

#### 4.3 緑色イオウ細菌

緑色イオウ細菌の反応中心については紅色細菌の場合ほど詳しくは研究されていない。反応中心の完全精製の報告はまだないが、その構造は紅色細菌とかなり異なり、むしろ高等植物の反応中心 I との類似が指摘されている。

緑色細菌に特徴的なのはクロロソームの存在である(図 8)。クロロソームは細胞膜の内面に接する細長い粒子で、約 10<sup>4</sup> 個の BChl *c*~*e* がアンテナ色素として機能している。ここで吸収された光エネルギーはベースプレート(BChl *a* のみからなる)を介して膜アンテナタンパク(BChl *a* のみからなる)へと伝達され反応中心にいたる。反応中心はクロロソームあたり数個存在している。最近、クロロソームのベースプレート側に微量の BChl *a* が存在し、クロロソームとベースプレート間のエネルギー移動に関与していることが報告された。クロロソームの細

胞膜からの完全分離は困難であるため、クロロソーム包膜および内部構造の実体については不明な点が多い。

ベースプレートは水溶性のタンパクで、結晶化と構造解析がなされている<sup>11)</sup>。3 個のサブユニットからなり、各サブユニット中に 7 分子の BChl *a* が組み込まれている。このタンパクは構造タンパク内での色素配向状態解明の第 1 段階で用いられたという点で重要である。

反応中心には BChl *a*、BChl 663 (BChl *c* の一種か)、カロチノイドおよび 2 種の鉄-硫黄クラスター (FeS)<sup>12)</sup> が含まれる。初発電荷分離素子 P870 の正体は不明であるがおそらく BChl *a* の二量体であろう。FeS は直接フェレドキシン (Fd) を (さらに NAD<sup>+</sup> を) 還元できる。これは紅色細菌の反応中心が直接これらの還元を行わないことと対照的で、反応中心 I の FeS と機能がよく似ている。

#### 4.4 緑色滑走細菌

近年発見された緑色滑走細菌は、図 9 のように緑色イオウ細菌に特徴的な巨大なクロロソーム (BChl *c* からなる) 構造をアンテナ系に持ちながら、紅色細菌に似た反応中心を持つという特殊な構造をしている。

反応中心タンパク複合体の単離が最近なされ<sup>13)</sup>、結晶化にはいたっていないものの、分光測定によりその分子構築が解明されつつある。図 9 に示したように、紅色細菌反応中心の BChl *a* の 1 個が BPheo *a* に置き換わっているのが特徴で、置換されたほうの経路では電子伝達はほとんど起こらない<sup>12)</sup>。反応中心の構造と機能は紅色細

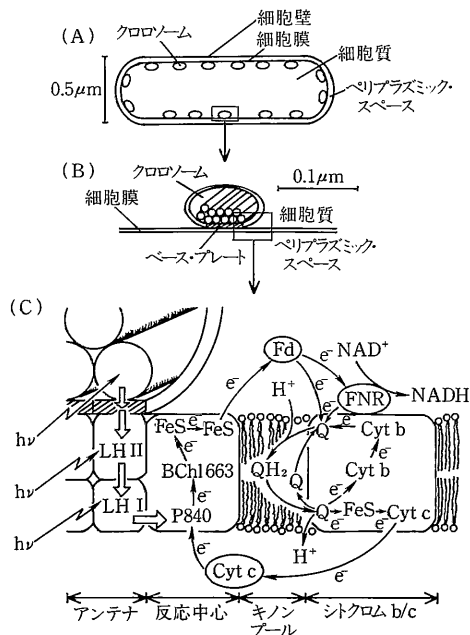


図 8 緑色イオウ細菌の光化学系

(A) 細胞全体 (B) 細胞膜の一部とクロロソーム  
(C) 光化学系のモデル図

P840: 初発電荷分離素子, BChl 663: 初期電子受容体, Fd: フェレドキシン, FNR: フェレドキシン-NAD<sup>+</sup>還元酵素

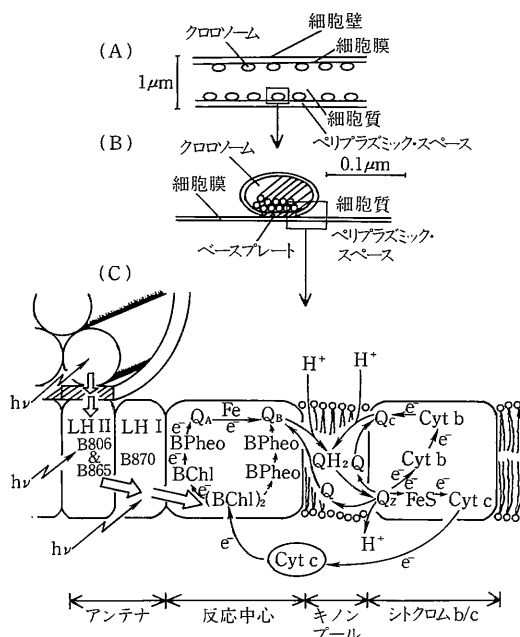


図 9 緑色滑走細菌の光化学系

(A) 細胞の一部 (B) 細胞膜の一部とクロロソーム  
(C) 光化学系のモデル図

菌と似ている部分が多いが、ポリペプチド構成は異なる。

#### 4.5 ヘリオバクテリウム<sup>14)</sup>

ごく最近発見されたヘリオバクテリウムではBChl *a*ではなくBChl *g*が機能している。紅色細菌のような発達した細胞内膜系も、綠色細菌のようなクロロソームもない。16SリボソームRNAの塩基配列も、この細菌が他の光合成細菌とかなり異質であることを示す。アンテナ系のBChl *g*は少なくとも3種の異なる状態(BChl *g* 779, BChl *g* 793, BChl *g* 808)にある。初発電荷分離を担うP798はBChl *g*からなると推定されているが、二量体か単量体かわかっていない。この細菌ではBChl *g*のほかに、吸収特性がBChl *c*に似た色素が初期電子受容体として機能しているらしい。綠色イオウ細菌と同様に、反応中心にはFeSが存在するが、直接Fdを還元できるか否かは不明である。反応中心のペプチド構成も不明である。

#### 4.6 シアノバクテリアと葉緑体

酸素発生型の光合成を行うシアノバクテリア以上の植物(図1参照)では反応中心が2種類存在する(図10, 11)。詳細は省くが、反応中心構成分子の種類とペプチド組成から、反応中心Iは綠色イオウ細菌型、また反応中心IIは紅色細菌型であるといえる。Olson<sup>15)</sup>は、原始光合成生物は2種の光化学系を持っていて、進化の過程でどちらか一方を失ったのが光合成細菌、そのまま進化した

のがシアノバクテリアや葉緑体型植物だと推測しているが、1種類の反応中心しか持たない紅色細菌と綠色細菌とから、2つの異なる反応中心を有する生物が誕生したという考え方もできよう。

#### 5. 葉緑体の起源と進化—細胞内共生説と細胞内分化説

葉緑体の起源については古くから議論され、いくつも仮説が提唱されてきたが、大別すると次の2つになる。

1つは、光合成を行わない真核生物細胞にシアノバクテリアなどの原核植物が共生し、オルガネラ化したとするものである。共生説を支持する例証は、現在地球上に多数みられるシアノバクテリアの共生である。シアノバクテリアと葉緑体の大きさはほぼ同程度で、このことも共生説を有利にする。もう1つの説は細胞内分化説(膜分化説)で、光合成細菌のような原核生物が高等植物のような真核生物に進化する途上で細胞内膜が分化し、核・ミトコンドリア・葉緑体などのオルガネラができたとする説である(図12)。現在、共生説が有力であるが、どちらが正しいかは今後の研究にゆだねられている。

葉緑体の起源を考察するうえで注目すべき生物がいくつかあり、その1つが中生核生物である(図13)<sup>4)</sup>。この生物では核膜が葉緑体を完全に包みこんだ核—葉緑体連合体を形成している。この生物は原核生物と真核生物との橋渡し生物として、核分裂や葉緑体の増殖の際どのような行動をとるのか、細胞の生活環を通じての詳細な観

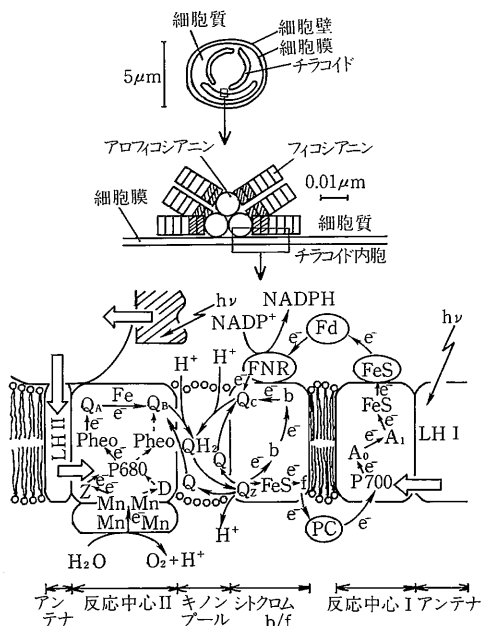


図10 シアノバクテリアの光化学系

(A)細胞全体 (B)細胞膜の一部とフィコビリソーム (C)光化学系のモデル図

FNR: フェレドキシン—NADP<sup>+</sup>還元酵素, A<sub>0</sub>: 光化学系 I の初期電子受容体, A<sub>1</sub>: ビタミンK<sub>1</sub>(?), PC: プラストシアニン

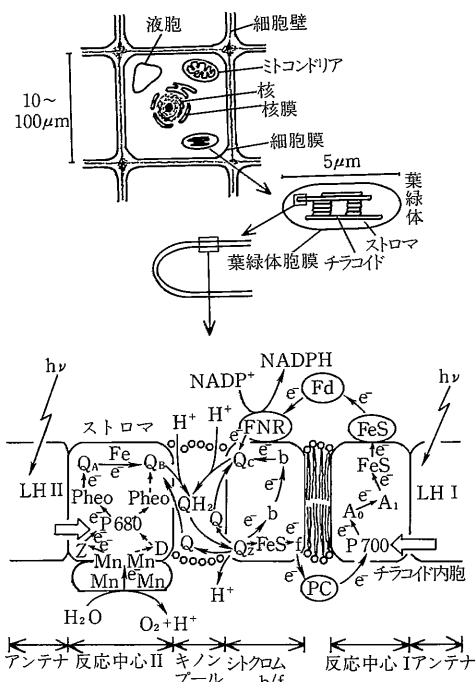


図11 高等植物・藻類の光化学系

(A)細胞の一部 (B)葉緑体 (C)チラコイド膜の一部 (D)光化学系のモデル図

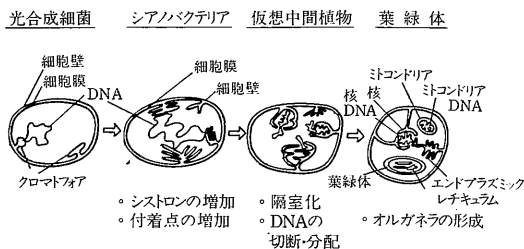


図12 細胞内分化説によるオルガネラの進化的形成とDNAの配分 (文献4)より改写)

察に興味をもたれる。

## 6. 筆者らの研究

### 6.1 背景

当研究室では数年来、光合成の分子機構解明に寄与することを目指して、高等植物とシアノバクテリアについてクロロフィル類組成の精密計測を行ってきた。その結果、新規な色素クロロフィル  $a'$  (Chl  $a'$ : Chl  $a$  の C10 位立体異性体, Chl  $a$  のエピマーと呼ぶ) が反応中心 I に 1 分子だけ存在することを初めて明らかにした<sup>15)16)</sup>。Chl  $a'$  は、P700 とその近傍を構成する 8 個の Chl 分子の 1 つであることまでは解明できたが、Chl  $a'$  の正確な存在サイトや機能はまだ不明である。

Chl  $a'$  は、われわれが生体本来の構成成分であることを示すまで、抽出操作中に生じた artifact だとみなされてきた。紅色細菌の BPhео や反応中心 II の Pheо が近年まで BChl や Chl の分解産物ではないかと疑われていたのと状況がよく似ている。現時点で明らかにされているクロロフィルの植物群による存在分布を表 1 にまとめて記した。最近発見されたばかりのヘリオバクテリウムは度外視するとしても、微量色素 (微量とはいえ BChl  $a$  または Chl  $a$  の約 1% 量) である (B) Pheо とエピマーについての精密計測はなおざりにされてきたことがわかる。これは従来の分離分析手法の不備によるものである。

表 1 クロロフィル類の分布

BChl  $b$  とプロトクロロフィルは除外した

		Chl			BChl			(B) Pheо	エピマー
		$a$	$b$	$c$	$a$	$c \sim e$	$g$		
真核植物	高等植物	○	○	×	×	×	×	○	○
	緑藻	○	○	×	×	×	×	○	○
	褐藻	○	×	○	×	×	×	○	?
	紅藻	○	×	○	×	×	×	○	?
	シアノバクテリア	○	×	×	×	×	×	○	○
原核生物	紅色非イオウ細菌	×	×	×	○	×	×	○	×
	紅色イオウ細菌	×	×	×	○	×	×	○	?
	緑色非イオウ細菌	×	×	×	○	○	×	?	?
	緑色イオウ細菌	×	×	×	○	○	×	?	?
	ヘリオバクテリウム	?	?	?	?	?	○	?	?

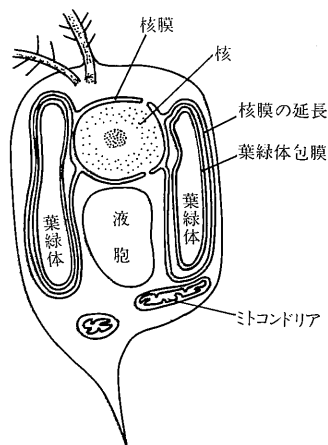


図13 中生核生物 *Ochromonas danica* の細胞中における核と葉緑体の連合 (文献4)より改写)

ところで光合成生物は反応中心の共通電子伝達成分によって 2 つに大別可能である。1 つは FeS を持つ RC1, もう 1 つは (B) Pheо と 2 個のキノン ( $Q_A$ - $Q_B$ ) を有する RC2 である (図14)。表 1 と図14 とから、酸素発生型の光合成生物はすべて RC1 と RC2 を持ち、われわれが見いだしたエピマー-Chl  $a'$  はこれらの生物の RC1 にのみ存在し、RC2 には存在しないことが示唆される。しかし、他の光合成生物の RC1 にエピマーが存在するのか、また他の RC2 にエピマーは存在しないのかについては全く不明である。

われわれはこの点にかなり、光合成の分子機構や分子進化の一端を明らかにするための有効な手段の 1 つは、一連の光合成生物の色素組成を厳密に計測し比較検討することであると考え、その手始めとして紅色細菌の色素計測を開始している。

### 6.2 紅色非イオウ細菌 *Rb. sphaeroides* の色素組成<sup>17)</sup>

材料として、最も研究が進んでいる光合成細菌の 1 種 *Rb. sphaeroides* を選んだ。この細菌は RC 結晶の X 線解析分析により RC あたり BPhео  $a$  を 2 分子含むことが立証されている (図 7 参照)<sup>9)</sup>。ところで X 線解析の分解能は 3 Å 程度で、バクテリオクロリン環の直径が約 20 Å であることを考えると、現在の X 線解析では C10 位の立体

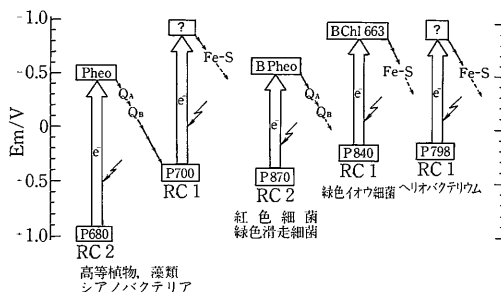
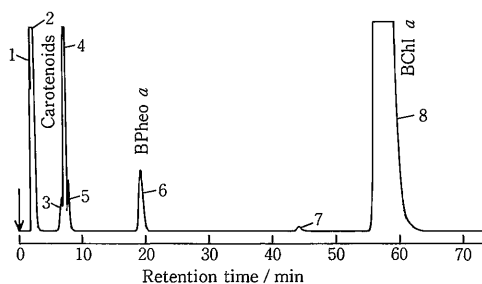


図14 電子伝達成分による反応中心の分類

図15 *Rb. sphaeroides*抽出液のHPLCチャート

異性体どうし、すなわちエピマー対を判別することは困難であろう。BChl *a*とBPheo *a*とは環上の電子の密度分布が大きく異なるので、両者の判別にはX線解析で十分である。

実験の詳細は省略するが、われわれはシリカ順相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて色素の精密計測を行っている。結果の一例を図15に示す。最初にカロチノイド(1~5)が、そしてBPheo *a*(6)、2-desvinyl-2-acetyl Chl *a*(7)、BChl *a*(8)の順に溶出する。2-desvinyl-2-acetyl Chl *a*はBChl *a*の環IIが酸化されクロリン化したもので、BChl *a*の0.03~0.1%と非常に微量であることから、操作中に生じたartifactまたはBChl *a*の生合成中間生成物と推定される。BChl *a*から調製したBChl *a'*は、同一条件下で2-desvinyl-2-acetyl Chl *a*とBChl *a*の間に、またBPheo *a'*はBPheo *a*の直前に溶出することから、*Rb. sphaeroides*にはエピマーは存在しない。

従来、反応中心の定量は特別な装置と熟練を要する光酸化法によって行われてきたが、本測定法を用いれば反応中心あたり2分子存在するBPheo *a*を定量するだけで簡単かつ正確に定量できる。たとえば、図15のクロマトグラムよりモル比BChl *a*/BPheo *a*として約100という値が得られるが、RCあたりBPheo *a*が2分子存在することを考慮するとモル比BChl *a*/RCは約200となり、これは光酸化法による定量値とよく一致している<sup>18)</sup>。

### 6.3 展望

現在までにわれわれが高等植物、シアノバクテリア、紅色細菌について行った色素組成計測の結果はRC1にエピマーが、RC2に(B)Pheoが存在するという対応関係を与えた。今後、表1の未解明な個所を埋めるべく他の植物群についても同様な計測の実施を計画しており、現在緑色イオウ細菌の色素分離条件の検討を始めたところである。

上述の対応関係が成立しない生物群がみつければ、光合成生物の進化に関連して興味深い。たとえば(B)Pheo

とエピマーの両方が1種のRCに存在するような生物群があれば、RC1とRC2が混在していた生物が原始光合成生物であるということになるし、(B)Pheoもエピマーも存在しない生物群があったとしたら、それは光合成生物の進化に伴う両色素の出現のカギを握っているといえる。また、エピマーの生合成・構造タンパク内への組み込みと反応中心の機能発現との関係を詳細に調べれば、エピマーの役割についての知見が得られると期待される。

光合成細菌の色素組成に関するわれわれの研究はまだ緒についたばかりで、今後培養条件や分析手法など種々の問題について詳細な研究を行い、色素構成を手がかりとして光合成の分子機構解明に結びつけ、さらに工学的な応用の途をも探っていきたいと考えている。

(1988年12月19日受理)

### 参 考 文 献

- 1) J.M. Olson and B.K. Pierson, 108, 209 (1987).
- 2) S. Toyama, Jap. J. Bot., 20, 413 (1974).
- 3) G. Drews and J. Oelze, Adv. Microb. Physiol., 22, 1 (1981).
- 4) 石田政弘:葉緑体の分子生物学(1987), 東京大学出版会.
- 5) H. Michel, J. Mol. Biol., 158, 567 (1982).
- 6) J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber and H. Michel, J. Mol. Biol., 180, 385 (1984).
- 7) C.-H. Chang, D. Tiede, J. Tang, U. Smith, J. Norris and M. Schiffer, FEBS Lett., 205, 82 (1986).
- 8) C. Kirmaier, D. Holtz and W.W. Parson, Biochim. Biophys. Acta, 810, 33 (1985).
- 9) J.M. Kramer, B. van Grondelle, C.N. Hunter, W.H.J. Westerhuis and J. Amesz, Biochim. Biophys. Acta, 765, 156 (1984).
- 10) K. Sauer and L.A. Austin, Biochemistry, 17, 2011 (1978).
- 11) B.W. Matthews, R.E. Fenna, M.C. Bolognesi, M.F. Schmid and J.M. Olson, J. Mol. Biol., 131, 259 (1979).
- 12) R.E. Blankenship, Photochem. Photobiol., 40, 801 (1984).
- 13) H. Vasmel, R.F. Meiburg, H.J.M. Kramer, L. J. de Vos and J. Amesz, Biochim. Biophys. Acta, 724, 333 (1983).
- 14) J. Amesz, Photosynthetica, in press (1988).
- 15) 渡辺 正, 小林正美, 日本化学会誌, 383 (1988).
- 16) M. Kobayashi, T. Watanabe, M. Nakazato, I. Ikegami, T. Hiyama, T. Matsunaga and N. Murata, Biochim. Biophys. Acta, 936, 81 (1988).
- 17) M. Kobayashi, K. Osawa, T. Watanabe, H. Miyashita, T. Matsunaga, J. Chromatogr., in preparation.
- 18) J. Aagaard, & W.R. Sistrom, Photochem. Photobiol., 15, 209 (1972).