

光合成細菌が持つ集光機能物質の構造を世界で初めて解明 バクテリオクロロフィル *c* 複合体の積層構造 —物質・材料研究機構の強磁場固体NMRが決め手—

平成21年4月28日
 独立行政法人物質・材料研究機構

独立行政法人物質・材料研究機構（理事長：岸 輝雄）ナノ計測センターの清水 禎グループリーダーらの共同研究チームは、炭素とマグネシウムの固体 NMR 等の手法を用いて、葉緑素の一種であるバクテリオクロロフィル *c* と呼ばれる分子が実際の生体内でどのような構造になっているのかについてその詳細を解明することに成功した。すなわち、およそ百個規模の分子が寄り集まってクロロゾームと呼ばれる積層構造をしていることまでは従来から知られていたが、6種類提案されていた積層構造のうち一種類に特定されることを実験結果から示すことができた。更に、分子同士を結合させて積層構造を作る原因が、水分子とマグネシウムとの化学結合であることも示すことができた。これらの発見は世界でも初めてである。

【今回解明したこと】 （図1～図4参照）

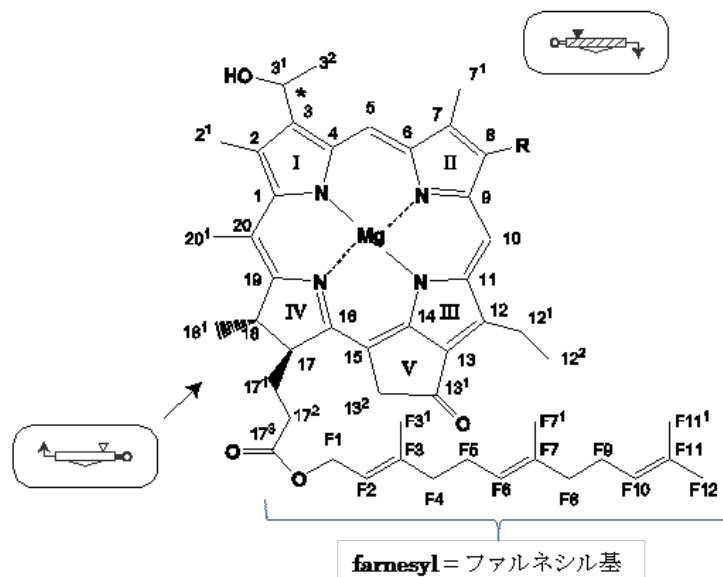


図1：バクテリオクロロフィル *c* 単体の分子構造。

バクテリオクロロフィル *c* (Bchl *c* と略称) 分子を左の矢印から見たとき、左のような省略記号を使い、反対側から見たとき、右のような省略記号を使う。矢印から見た場合、左側に OH 基が、右側に C=O 基が見え、それぞれ「折れ曲がった矢印」、「=O」で示している。また、C1～C20 は分子を横から見れば平らになっているので「長方形」で、真ん中の Mg 原子はその平らな部分より下に存在していて「長い三角形の先端」で、farnesyl (ファルネシル) 基は「▽」で示してある。反対側から見た場合、反対であることを、縞々あるいは黒で示した。

図2：今回の積層構造解明の決め手になったマグネシウムのNMR信号。

物質・材料研究機構の930MHz^z-NMR（21.8テスラ）装置で測定したクロロゾームのマグネシウムNMR信号。局所構造が異なる2種類のマグネシウム（サイト1とサイト2）が存在していることが分かる。提唱されていた6種類の積層構造モデルのうち、2種類のMgを持つ構造は図4に記した構造だけである。

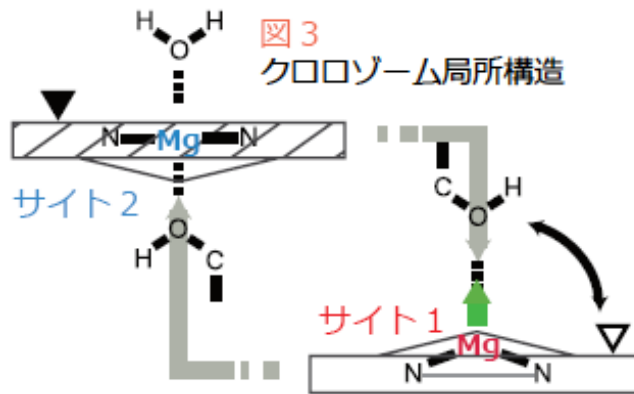
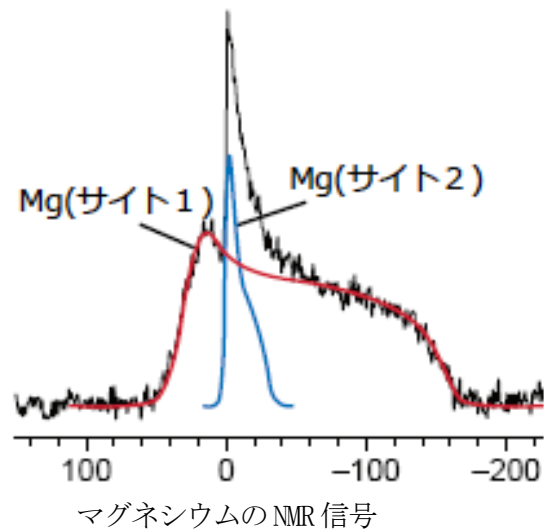


図3：今回解明した二つの主要成果のうちの一つ目。

図2に示したNMR実験結果と合致するクロロゾームの局所構造。積層構造の最小単位が2量体（2個のバクテリオクロフィル分子が結合してできた大きさ2倍の分子）であることを示しています。

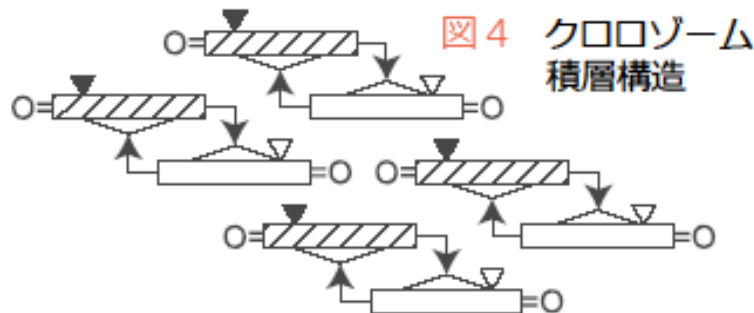


図4：今回解明した二つの主要成果のうちの一つ目。

図2に示したNMR実験結果と合致するクロロゾームの積層構造。斜め上下に隣り合う2量体同士が水分子によって結合してできた2量体積層構造であることを示しています。

【今回の解明に貢献した技術】

マグネシウムの NMR 信号を観測できたことが決定的に重要です。マグネシウム原子核は四極子核（用語集）に属するので、20 テスラ以上の強い磁場を用いなければ固体状態の信号を観測することは困難です。そのため従来の NMR 装置では観測されていませんでした。今回、物材機構の 930MHz-NMR（磁場強度は 21 テスラ、写真参照）装置を使うことによって、世界で初めてクロロフィル類における Mg 核の観測に成功しました。クロロフィル類はマグネシウムを中心に持つ分子構造をしているので、マグネシウムを直接観測することは極めて有力な情報となります。



【研究の背景】

クロロゾームは、緑色光合成細菌（用語集参照）に特有の生体構造物です。大きさは50～100nm、形は楕円体状をしており、細胞膜の内側に付着しています。役割は光を吸収する集光装置で、吸収した光エネルギーを電子エネルギーに変換します。電子エネルギーは、その後、クロロゾームが付着しているベースプレートと呼ばれる蛋白質部分を通して細胞膜の中にある光反応中心複合体と呼ばれる部分へ伝達され最終的にそこで光合成の化学反応を行います。

クロロゾームの内部は大量のバクテリオクロロフィル分子（葉緑素＝クロロフィル類の一種、用語集参照）と水などによって満たされています。バクテリオクロロフィル分子は1個1個の分子がバラバラでいるのではなく、大まかに100個くらいの分子が集まって積層構造を構成しています。しかし、その積層構造が具体的にどのような構造なのかについては、複数の模型が提唱されていたものの、真相は未解明でした。

クロロゾーム内におけるバクテリオクロロフィルの積層構造に興味を持たれる理由は、クロロゾームが吸収する光の波長が単体のバクテリオクロロフィル分子が吸収する光の波長とは異なることが分かっており、単体とは異なる性質が積層構造に生じる原因を究明したいからです。しかも、バクテリオクロロフィルは蛋白質の助けを借りずに積層構造を作る（自己集積機能）ことが従来から分かっており、高等植物のクロロフィルが蛋白質の助けを借りて積層構造を構築していることと顕著に相違しています。蛋白質なしでも自己集積機能を持つバクテリオクロロフィルの機能解明という観点からもバクテリオクロロフィルの積層構造の詳細な解明に関心が持たれていました。

バクテリオクロロフィル単体の分子構造は以前から良く知られていて、a型からg型まで7種類の異なる分子構造があることが分かっています。いずれも、クロロフィル類に属する他の分子と同じく、マグネシウムを中心に持つリング状をした金属錯体です。今回の研究では、このうちバクテリオクロロフィルcについて、その積層構造の研究を行いました。バクテリオクロロフィルcのことを略記してBChl c と記すことがよくあります。

クロロゾーム内のBChl cの積層構造が、単量体積層構造（すべてのBChl c分子が同じ向きに揃って積層）なのか、あるいは2量体積層構造（2個のBChl c分子が向かい合わせに結合してできた2倍の大きさの分子が最小単位になって積層）なのかが従来の主な不明点でした。

【成果の意義、波及効果、応用例】

バクテリオクロフィルの積層構造が解明されたことは、その機能を研究していく上で必須な情報です。緑色光合成細菌は光の少ないところでも成育できることが特徴です。それは集光機能が極めて効率的にできていることを意味しています。バクテリオクロフィルの積層構造と機能の全容を解明できれば、日光が十分でない環境でも効率良く働く太陽電池に応用する可能性が拓けます。

また、生体物質で重要な役割を果たしているマグネシウムを直接観測する技術を手に入れたことは、生体機能の核心に迫る上で極めて重要なことです。

【チーム内の役割】

関西学院大と神戸市外大は、緑色光合成細菌の培養、クロロゾームの抽出、コンピュータを用いた NMR スペクトルの解析、粉末 X 線回折パターン測定と解析などを行いました。特に関西学院大の小山泰教授は、光合成研究を 30 年以上行ってきたその分野の第一人者です。物質・材料研究機構は 930MHz-NMR 装置など世界トップレベルの強磁場磁石を用いて固体 NMR 測定を行いました。特に葉緑素におけるマグネシウム原子核の固体 NMR 測定は物質・材料研究機構の強磁場磁石によって世界で初めて信号の観測に成功しました。日本電子は装置メーカーとして NMR 測定に必要な装置およびソフトウェアを製作しました。

【共同研究実現の背景】

文部科学省のナノテクノロジーネットワークに参画し、施設の共用化を進めている当機構の「NIMS ナノテクノロジー拠点事業 (国際ナノテクノロジーネットワーク拠点が運営)」を活用することで、産学官の連携による共同研究が実現しました。

【研究実施者】

この研究成果は、以下の 4 機関の共同研究チームによって得られました。

- ・関西学院大学 (杉原左右一学長、兵庫県西宮市) 理工学部 小山泰・教授
理工学研究科 柿谷吉則・博士研究員
- ・神戸市外国語大学 (木村 榮一 学長、兵庫県神戸市) 長江裕芳教授
- ・(独) 物質・材料研究機構 (岸 輝雄 理事長、茨城県つくば市)
強磁場 NMR グループ・清水禎・グループリーダー
- ・日本電子株式会社 (栗原権右衛門社長、東京都昭島市)

【問い合わせ先】

〒305-0047 茨城県つくば市千現1-2-1
独立行政法人物質・材料研究機構
広報室 TEL:029-859-2026

【研究内容に関すること】

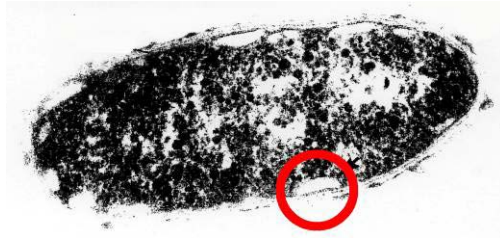
独立行政法人物質・材料研究機構
ナノ計測センター 強磁場NMRグループ
グループリーダー 清水 禎
電話 029-863-5509
FAX 029-863-5571
Eメール shimizu.tadashi@nims.go.jp

関西学院大学
教授 小山泰
電話 079-565-8408
FAX 079-565-8408
Eメール ykoyama@kwansei.ac.jp

用語集（参考資料）

【緑色光合成細菌】

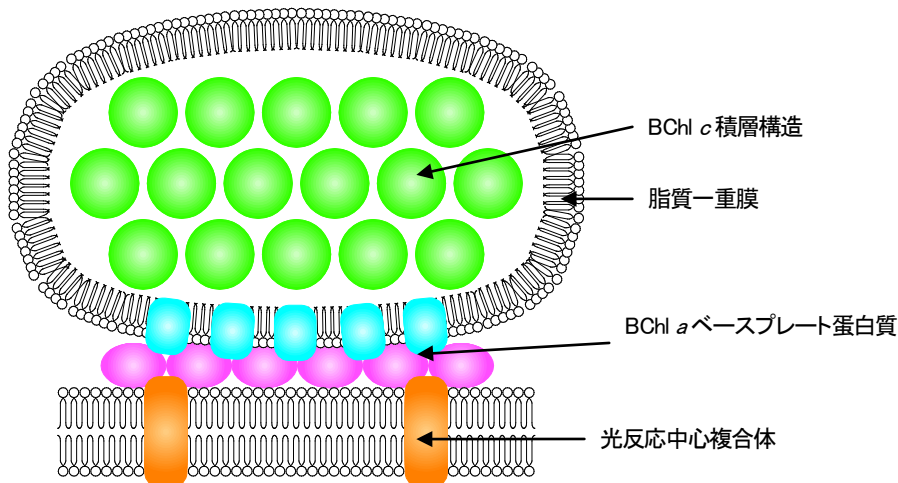
光合成機能を持つ細菌の一種で、クロロフィル類（＝葉緑素）を体内に持っています。水素、硫化水素、二酸化炭素などの主に無機物を原料として吸収し、光エネルギーによって化学合成を行い、有機物（生体組織など）を生成しながら生きています。酸素を発生する光合成はしていません。細胞膜の内側にクロロゾームと呼ばれる特有の光集光装置を持っています。



緑色光合成細菌の電子顕微鏡写真 (*Chlorobium limicola*; Staehelin et al. *Biochim. Biophys. Acta* 589 (1980) 30) で、赤丸の中心に見える白い部分がクロロゾーム。細胞膜の内側に付着していることがわかります。

【クロロゾーム】

緑色光合成細菌が持っている独特な集光装置です。バクテリオクロロフィルと呼ばれるクロロフィル（葉緑素）の一種を内部に大量に含んでいます。蛋白質の助けを借りずに構造を形成して機能を持っているという生体構造物としては珍しい例です。



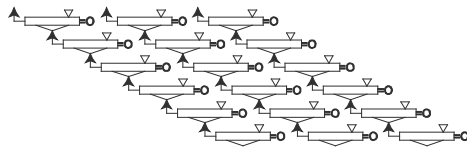
クロロゾームの模式図

【積層構造】

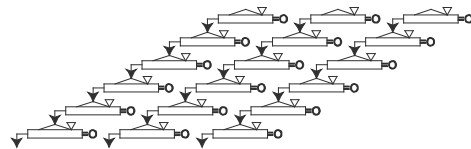
約100個規模のバクテリオクロフィル*c*分子が自己集積してできた構造を積層構造といいます。積層構造には大まかに2種類発見されていて、BChl *c* 各分子が同じ向きに揃って階段状に積み重なった単量体積層構造と、2個のBChl *c*分子が向き合ってきた2量体が積み重なった2量体積層構造です。

Weakly-overlapped monomers:

(a) structure 1

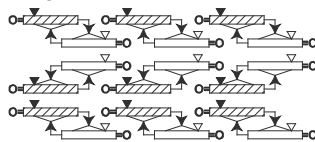


(b) structure 2

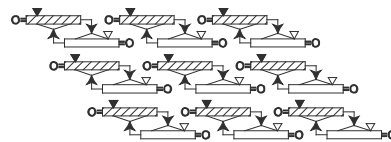


Strongly-overlapped dimers:

(c) straight columns

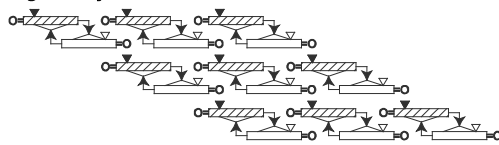


(d) inclined columns

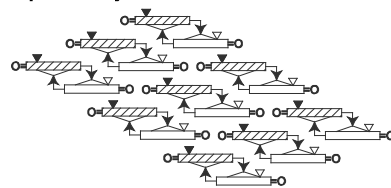


Weakly-overlapped dimers:

(e) aligned layers



(f) displaced layers



従来提唱されていたBChl *c*の積層構造。(a)と(b)は単量体積層構造で、(c)~(f)は二量体積層構造。(f)はBChl *c*を固体状態(クロロゾーム内と同じ状態)にして初めて発見された構造で、今回の研究の成果である。

【強磁場固体NMR(基本原理、特徴、経緯)】

NMRは核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance) の略で、強度が一定の磁場 (静磁場) 中に置かれた試料内の原子核が、外部から照射した電磁波に共鳴する現象です。共鳴の際に原子核から電磁波が信号として放出され、その周波数などから原子核が置かれている環境に関する情報 (分子構造など) が得られます。粉末などの固体試料に対するNMRを固体NMRと呼びます。

NMRで検出される信号の強度は静磁場の強度とともに増大し、特に後述する四極子核 (用語集参照) に対する固体NMRではこの効果が顕著です。四極子核に対しては、磁場は強ければ強いほど良く、物材機構の930MHz-NMRは固体NMR専用装置としては、世界で最も強い磁場を発生しています。

【四極子核(しきょくしかく)、四極子相互作用(しきょくしろうごさよう)】

マグネシウムなど特定の原子核では核内部の電荷分布が球対称からずれており、電気四重極モーメントをもっています。このような原子核を四極子核と呼びます。四極子核は核の周りの電場 (結晶場) と相互作用し、これを四極子相互作用と呼びます。固体NMRでは四極子相互作用は共鳴周波数の分布として観測されます。この分布の幅は四極子が置かれている結晶場の対称性を反映しています。すなわち、対称性が高い結晶場では分布の幅は小さく、対称性が低い結晶場では分布の幅が大きくなります。また、四極子相互作用による線幅は静磁場強度に反比例して小さくなるため、強い静磁場を用いてNMR測定を行なうと感度良くNMR信号が観測されます。

