

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 14 日

2020 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	海洋性藻類の新規光合成アンテナ蛋白質と色素の相互作用の解明		
研究代表者	氏名	藤井 律子	
	所属機関名・部局名	大阪市立大学・人工光合成研究センター	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	栗栖源嗣		
<p>太陽光を用いて化学反応を起こすことは未だ人類が達成できていない課題の一つである。光合成生物は、光合成アンテナと呼ばれる色素蛋白質複合体を用いて、高効率の集光と過剰エネルギーの散逸という二律背反の命題を調整し、光合成反応中心での光化学反応を駆動している。このエネルギー調整の分子メカニズムには、光合成アンテナに結合したカロテノイド色素が深く関わる。海洋では、水深により太陽光は赤色、青色領域で急激に減衰し、緑色の弱い光しか届かない。シフォナス緑藻と呼ばれる水深のやや深いところに生育する大型藻類では、光合成アンテナ (SCP) に結合したシフォナキサンチン(Sx)というカルボニルカロテノイドがこの緑色領域の吸収帯を担う。Sx の吸収帯は有機溶媒中では 450 nm のところ、この光合成アンテナでは 530 nm にまで大きく長波長シフトする。このシフトの要因は周囲のタンパク質との相互作用と考えられる。しかしながら、一般に藻類の光合成アンテナのタンパク質 lhcb には複数のアイソザイムが存在することがゲノムベースではわかっており、SCP のアミノ酸配列を特定することができない。そこで本研究では、緑藻ミルを単藻培養したものから SCP を調製し、電気泳動及び質量分析を用いることで SCP を構成するタンパク質のアミノ酸配列を同定し、さらにその配列を用いて作出したリコンビナントタンパク質と天然のミルから精製した色素を用いて SCP の再構成を行い、この結晶化及び X 線結晶構造解析を目指す。</p> <p>今年度は、ターゲットとした緑藻ミルの tRNA より lhcb タンパク質をコードする塩基配列を複数決定し、別途実施した RNA-seq との整合性を検討して実際のゲノム上にあると考えられる 5 種類の配列を同定した。また単離した SCP 精製標品の酵素消化物を MALDI-MS 測定することにより、そのうち 2 種類が SCP をコードする事を明らかにした。これらの配列により大腸菌に発現させ、天然のミルから精製した色素を用いて再構成を実施したところ、三量体と単量体の混合物として得られ、緑色領域の吸収帯の強度は小さく、Sx の結合性が悪く、代わりにそのエステルシフォネインが結合した。そこでシグナルペプチドを切断し、成熟タンパク質の配列で実施したところ、Sx の結合性は回復したが、三量体の安定性が低いところは改善しなかった。これらの結果より、緑色領域の吸収帯の増強は、蛋白質の三量体形成に由来することが強く示唆された。</p>			