

## 紅色光合成細菌における光捕集タンパク質の多様性<sup>‡</sup>

茨城大学 理学部

大友 征宇\*

### 1. はじめに

全ての光合成は光を集めることから始まる。光生物は太陽光の希薄な密度のエネルギーを効率的に集めるため、一般的に多数の色素分子とタンパク質からなるアンテナのような光捕集複合体 (light-harvesting complex, LH) を用いる。光捕集は光が生体内に入る玄関口に当たるため、光合成の効率と機能に重要な役割を果たしている。捕獲された光エネルギーは色素間における特異なナノスケールの空間配置により、フェムト秒からピコ秒単位で高速に移動し、ほぼ100%の量子収率で反応中心 (reaction center, RC) に到達して電荷分離反応を誘起する。

植物、藻類及びシアノバクテリアで代表される酸素発生型光合成の明反応系において、周辺光捕集複合体に加え、コアとなる光化学系本体の中でも光捕集機能が組み込まれている。例えば、シアノバクテリア由来の光化学系Iではタンパク質と結合している96個のクロロフィルの内、わずか6個が電荷分離と電子移動に関与し、残りの90個が光捕集色素として機能することがわかっている<sup>1)</sup>。これらのことから光合成の最終過程である炭酸固定に十分なエネルギーを供給するには光捕集の重要さとこれにかかるコストの高さが想像で

きる。

一方、過剰な光エネルギーによる光合成系の損傷を避けるため、光捕集系は必要以上の光エネルギーを熱エネルギーに変換し、光環境の変化に柔軟に対応できる能力をもっている。直接光の吸収と伝達を担うのが色素分子であるが、光捕集系に多彩な機能をもたせているのが色素を支えるための足場となるタンパク質である。光捕集系全般及び色素系については既に多くの書物が出版されているため<sup>2-6)</sup>、本稿では非酸素発生型光合成細菌の内、紅色細菌の光捕集系を取り上げる。図1にその模式図を反応中心とともに示す。この図からもわかるように研究材料としての光合成細菌の魅力は何と言ってもそのシンプルさと各構成器官の役割の明確さである。しかし、一見シンプルに見える現象でも想像を超える複雑さを内包しており、その仕組みの巧妙さも魅力の一つである。ここではその複雑さの要因の一つである光捕集タンパク質の多様性について、筆者らの研究を交えて紹介したいと思う。

### 2. コア光捕集複合体LH1

紅色光合成細菌の光捕集系は図1に示したようにコア光捕集複合体LH1と周辺光捕集複合体LH2から構成される。LH2を持たない *Rhodospirillum (Rsp.) rubrum* のような菌種もあるが、全ての紅色細菌にはLH1が存在する。LH1がRCを取り囲んだ形で配置し、RCとの比率は化学量論的にほぼ一定であるとされている。LH1は2種類のポリペプチド $\alpha$ と $\beta$ が組みとなり、これにバクテリオクロロフィル BChl が2分子とカロチノイドが結合したものが構造単位 (サブユニット) を構成する。多くの紅色細菌においてこの単位が15ないし16ほどRCの周りをやや楕円状に取り囲んでいるが、

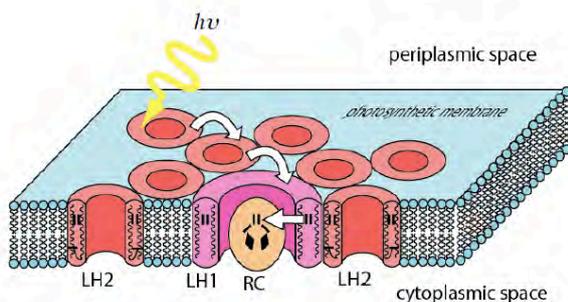


図1 紅色光合成細菌の光捕集複合体と反応中心の模式図

<sup>‡</sup> 解説特集「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」

\* 連絡先 E-mail: otomo@mx.ibaraki.ac.jp

*Rhodobacter (Rba.) sphaeroides* 由来のLH1のように13ないし14のサブユニットがダイマーとなって、S字の形でRCの周囲に配置するものもある。

紅色細菌の明反応器官の中で、LH1複合体の高分解能の立体構造はまだ得られていない。しかし、適切な条件下で、LH1は高い自己組織能力を示す。この性質を利用して、LH1を構成する構造単位についての研究が盛んに行われてきた。例えば、界面活性剤Octyl glucosideの濃度を調節することによって、色素BChlと $\alpha$ と $\beta$ ポリペプチドから820 nmに吸収極大を有するサブユニット複合体(B820)が再構成でき、さらにこのサブユニットから生体内と同様な吸収極大(約873 nm)を示す高次会合体(B873)が再構成される<sup>7)</sup>。図2にこの様子と各状態の吸収スペクトルとを対応させて示した。B820は極めて高い構造安定性をもつことで知られ、その正体については、一時期ヘテロダイマー(BChl<sub>2</sub> $\alpha\beta$ )かテトラマー(BChl<sub>2</sub> $\alpha\beta$ )<sub>2</sub>かの議論があったが、中性子散乱の測定から前者であることが示された<sup>8)</sup>。さらにB820中における色素分子について、核磁気共鳴の研究から2個のBChlがface-to-faceで非対称な配置を取り、ピロール環II、IIIとVが互いに部分的に重なっていることが明らかになった<sup>9)</sup>。このようにLH1全体についての詳細構造がわかっていないものの、その構成単位の構造と性質が詳しく調べられてきた。一方、色素を含む構造体の研究と平行に、LH1複合体の構成タンパク質についても多くの研究がなされてきた。以下、これらについて個別に述べる。

## 2.1. LH1 $\alpha\beta$ ポリペプチド

LH1を構成する主要タンパク質は、膜一回貫通領域をもつ $\alpha$ と $\beta$ ポリペプチド(分子量約5-7 kDa)である。BChl bを合成する*Rhodospseudomonas (Rps.) viridis*のような紅色細菌には、 $\alpha$ と $\beta$ に加え、 $\gamma$ ポリペプチド(約30残基)が1:1:1の割合で存在する<sup>10)</sup>。一般的にLH1 $\alpha$ と $\beta$ が種類ずつ存在するが、タイプVに分類されるオペロンをもつ紅色硫黄細菌*Allochrochromatium (Alc.) vinosum*と*Amoebobacter purpureus*には遺伝子上三種類ずつ(1A、pufB<sub>2A</sub>、pufB<sub>3A</sub>)存在することが知られている<sup>11, 12)</sup>。実際*Alc. vinosum*からLH1 $\alpha$ と $\beta$ ポリペプチドが二種類ずつ確認されている<sup>13-15)</sup>。しかし、近縁種の*Thermochromatium (Tch.) tepidum*のオペロン及びその周辺には、 $\alpha$ と $\beta$ をコードする遺伝子が対しか存在しないことが最近の研究で明らかになった<sup>16)</sup>。ま

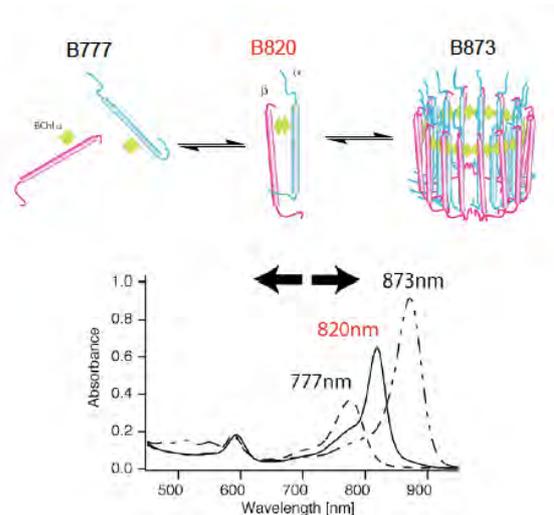


図2 LH1複合体の会合状態と対応する吸収スペクトル

た、好塩性紅色細菌*Ectothiorhodospira halochloris*と*Ectothiorhodospira halophila*のLH1からも $\alpha$ と $\beta$ ポリペプチドが二種類ずつ単離された<sup>17)</sup>。現在のところ、複数種類のLH1 $\alpha\beta$ ポリペプチドをもつ菌体と高塩濃度という生息環境との間に相関関係があるように見られるが、これらのポリペプチドのもつ生理的な意義はまだわかっていない。

一部のLH1 $\alpha\beta$ ポリペプチドは翻訳後C末端領域でのプロセッシングを受け、約10-15残基が切除されることが知られている。このような菌種には、*Rsp. rubrum*<sup>18)</sup>、*Rps. viridis*、*Rubrivivax (Rvi.) gelatinosus*<sup>19)</sup>と*Alc. vinosum*<sup>15)</sup>が含まれる。多くのLH1 $\alpha$ のN末端メチオニンがフォルミル化されている。さらに、このメチオニン基が容易に酸化を受けることもわかった<sup>20)</sup>。LH2 $\alpha$ ポリペプチドの場合、N末端残基がB800に配位することが知られているが、LH1の場合それに相当する色素が存在しないため、その役割は不明である。一方、殆どのLH1 $\beta$ のN末端がアラニンになっており、幾つかの菌体からこのアラニン残基がメチル化されていることが見出された<sup>21, 22)</sup>。また、古くからLH1ポリペプチドのリン酸化が報告されてきた。*Rsp. rubrum*の菌体及びクロマトフォアを用いた実験からリン酸化されたタンパク質の存在が確認され、分子量約10kDaのものがLH1ポリペプチドに帰属された<sup>23, 24)</sup>。同菌体からLH1をリン酸化するキナーゼも報告された<sup>25)</sup>。しかし、単離精製されたLH1ポリペプチドの質量測定からこのようなリン酸化が認められなかった<sup>20, 22)</sup>。*Rba. capsulatus*由来のLH1 $\alpha$ の場合、膜挿入過程において、特にcytoplasmic sideに位置するSer2が高い割合でリン

酸化され<sup>26)</sup>、その後完全に脱リン酸化を受けた結果、成熟後の光合成膜にはリン酸化されたLH1ポリペプチドが見つからなかった<sup>27)</sup>。

*Rhodovulum* (*Rhv.*) *sulfidophilum*のLH1 $\beta$ も複合体形成の過程でリン酸化されるが、形成後の膜にはリン酸化されたLH1 $\beta$ がまだ残っていたとの報告がある<sup>28)</sup>。

これらのリン酸化は、光合成膜の形成や膜へのタンパク質の挿入に際して必要な一時的な修飾であると考えられる。

### 2.2. PufXポリペプチド<sup>29)</sup>

全ての*Rhodobacter*種由来のLH1複合体には、PufXと呼ばれる約80残基の膜タンパク質が存在する<sup>30)</sup>。この中で、*Rba. sphaeroides* 由来のPufXが最も良く研究されてきた。PufXの役割として、主に嫌気条件下での光駆動電子移動<sup>31,32)</sup>と、RCとCytochrome *bc*<sub>1</sub>間のユビキノン輸送<sup>33)</sup>に関わり、またLH1-RC複合体のS字形二量体形成に寄与することが挙げられる<sup>34)</sup>。しかし最近では、*Rba. veldkampii* から単量体のLH1-RCが観測され、この場合PufXが二量化に寄与しないとの報告がある<sup>35,36)</sup>。PufXの存在は既に約20年以上前に知られていたが、タンパク質として単離されたのはずっと後のことである<sup>37)</sup>。PufXは生育条件によらずRCと1:1の量論比で発現され、強い疎水性の性質をもつ。翻訳後にC末端プロセッシングを受け、約70残基の成熟タンパク質になる。*in vitro*再構成の実験では、PufXはLH1 $\alpha$ と強く相互作用する傾向を示し、LH1複合体の形成に阻害的な効果を及ぼすことが明らかになった。さらにPufXの中央ドメインはLH1ポリペプチドとの相互作用<sup>38)</sup>に、両末端ドメインは主にLH1-RCの二量化とPufXの膜挿入<sup>39)</sup>にそれぞれ寄与することもわかった。

PufXの機能解明とともに、構造的研究も多くなされてきた。*Rba. sphaeroides*由来のRC-LH1-PufX複合体の二次元結晶から8.5Å分解能の構造<sup>40)</sup>、三次元結晶から12Å分解能の回折結果<sup>41)</sup>がそれぞれ報告された。またAFMや単粒子解析法などによる構造解析も報告されているが、分解能が低いため、複合体中におけるPufXの

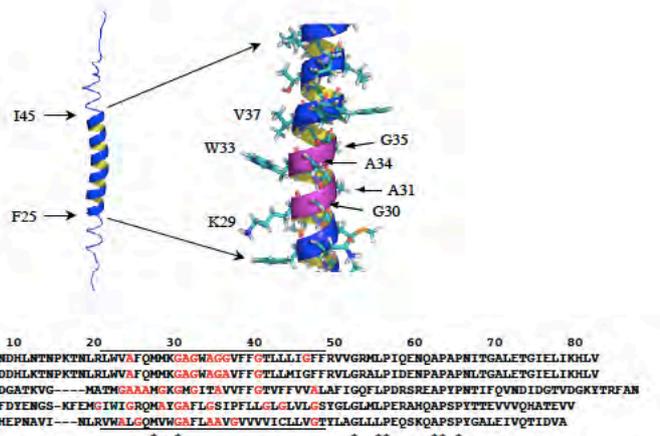


図3 *Rba. sphaeroides*由来PufXの構造とこれまで報告されたPufXのアミノ酸配列<sup>30)</sup>  
配列の上下にある黒線の部分は膜貫通領域を表し、その中にあるGlyとAla残基を赤字で示している。\*印は全PufXの中で保存されたアミノ酸残基を表す。

配置やコンフォメーションについて信頼できる情報を得るのが難しい状況にある。そこで、PufX単独の立体構造決定の試みも行われた。天然のPufXの発現量が極めて少なく、疎水性が高いため適切な発現系の探索が必要であった。筆者らは大腸菌発現系を構築し、*Rba. sphaeroides*由来のPufXの発現を試みたところ、活性をもつPufXタンパク質が大量に得られた<sup>42)</sup>。これに続き、PufXの同位体標識を行い、その立体構造を核磁気共鳴法で決定した<sup>43)</sup>。同時期に他のグループからの結果も発表された<sup>44)</sup>。PufXは膜一回貫通のヘリックス構造を示し、その中央部分にGlyとAla残基に富む領域(Gly30-Gly36、紫色)が存在することが判明した(図3)。この領域は側鎖の小さいGlyとAlaがヘリックスの片側に、側鎖の大きい他の残基がヘリックスの反対側と両側に位置して、くぼみ(凹)の形をしている「通路」のように見える。重水素交換の測定からこの領域のヘリックスが柔軟性に富み、他の部分より溶媒からのアクセスを受けやすい特徴をもっていることが明らかになった。図3のアミノ酸配列を見ると、*Rba. sphaeroides*と*Rba. capsulatus*のPufXの膜貫通領域にそれぞれ6つと7つのGlyが存在することがわかる。これは、LH1 $\alpha\beta$ の同じ領域にGlyが一個程度しかないことと好対照である。*Rba. sphaeroides*のPufXにある5つのGlyがGxGxxGGxxxG (x: Gly以外のアミノ酸)というモチーフを形成している。類似のモチーフ(V/IxGx<sub>1-2</sub>GxxGxxxG)が酸化還元酵素中にあるFADやNAD(P)の結合部位にもよく見られ<sup>45)</sup>、キノン輸送を担うPufXの機能的観点から興味深いことである。一方、これまで膜貫通ヘリックス間の相互作用にG x x x G y

GxxxAモチーフが高頻度で現れることが知られている<sup>46,47)</sup>。図3から、これらのモチーフが全てのPufX配列に見られることがわかる。他の実験結果と合わせて、GlyとAlaに富むこれらの領域はキノン輸送とタンパク質間相互作用を司るPufXの活性部位である可能性が高い。

### 2.3. Protein ΩとProtein W

*Rsp. rubrum*のカロチノイド欠損変異株からLH1を単離する際に、分子量約4 kDaの未知のタンパク質も同時に精製され、Protein Ωと名付けられた<sup>25)</sup>。Protein Ωは、LH1αβに対して約1/10のモル比で存在し、強い疎水的性質をもつとされる。そのアミノ酸組成が同定されたものの、配列に関する情報は得られていない。二次元再構成の結晶の観察では、Protein ΩをもつLH1-RCが四角形に近い4回回転対称の形態をとっていることが示され、Protein Ωが4つの角に配置する構造モデルが提案された<sup>48,49)</sup>。一方、*Rsp. rubrum*野生株から精製されたLH1とRCの二次元再構成結晶から、円形に近いリング状のLH1-RCの構造が観測された<sup>50)</sup>。

現在最も高い分解能(4.8Å)の結晶構造が知られている*Rps. palustris*のLH1-RCには、LH1αβに帰属できない新たなタンパク質が見出され、Protein Wと名付けられた<sup>51)</sup>。Protein Wは、RCに対して1:1、LH1αβに対して15:1の割合で存在し、LH1が形成するリング状構造の切れ目に位置する。有機溶媒で抽出されたLH1-RC複合体のゲル濾過分画によりProtein Wが単離され、銀染色SDS-PAGEでは11kDa、TOF-MSでは10708 Daであることがわかった。*Rps. palustris*のゲノム配列はすでに公表されているが、Protein Wの配列に関する情報はまだ得られていない。分子量、存在割合及びLH1-RC複合体中での配置から、Protein Wがキノン輸送に関わるPufXと似たような役割を果たすのではないかと推測されている。

### 2.4. LH1と金属イオンとの相互作用

一般に、BChl *a*をもつ紅色細菌のLH1は約880 nmに吸収ピーク ( $Q_y$ 遷移)を示す。一方、紅色硫黄細菌970株の場合960 nm<sup>52)</sup>、好熱硫黄細菌*Tch. tepidum*の場合915 nm<sup>53,54)</sup>、非硫黄細菌*Roseospirillum parvum* 930Iの場合909 nm<sup>55)</sup>にそれぞれ $Q_y$ ピークをもつことが知られている。これらのLH1 $Q_y$ 遷移が長波長へシフトする原因は長い間謎に包まれてきた。最近、*Tch. tepidum*のLH1におけるこの異常吸収挙動にCa<sup>2+</sup>が深く関わって

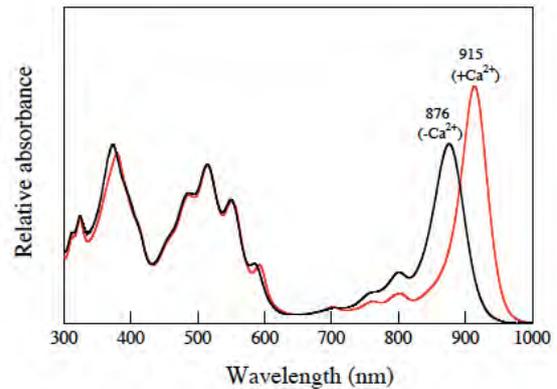


図4 *Tch. tepidum*由来LH1-RC複合体のLH1 $Q_y$ 遷移に及ぼすCa<sup>2+</sup>の影響

Ca<sup>2+</sup>存在下では、915 nmに位置するのに対して、Ca<sup>2+</sup>を取り除いた場合は、876 nmに変化する。

いることが突き止められた(図4)<sup>56)</sup>。NaClを用いた陰イオン交換カラムで精製したLH1-RCに、各種濃度のNa<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Sr<sup>2+</sup>、Ba<sup>2+</sup>塩を添加したところ、Ca<sup>2+</sup>塩を除く全ての塩でLH1 $Q_y$ 遷移のブルーシフトが観測され、このことはLH1中の色素の配向状態に変化が起きたことを表している。そこでCaCl<sub>2</sub>を用いて精製したLH1-RCに対して同様の実験を行ったところ、全ての塩においてLH1 $Q_y$ 遷移の変化が認められなかった。このことはLH1ポリペプチドにCa<sup>2+</sup>-binding siteが存在し、一旦Ca<sup>2+</sup>が結合するとLH1中の色素の配向構造が強く保持されることを示唆している。

*Tch. tepidum*から精製されたLH1-RC複合体は常温菌のものより高い熱安定性を示し、約60°Cまで安定に存在できる。この熱安定性にもCa<sup>2+</sup>が必要であることが明らかにされた<sup>57)</sup>。天然のLH1-RC複合体からCa<sup>2+</sup>を除去することにより熱安定性が常温菌由来のものと同程度まで下がり、またLH1-RCにCa<sup>2+</sup>を添加すると再び熱安定性が天然型と同じレベルに回復することがわかった。示差走査熱量分析により、天然型LH1-RCの熱変性温度はCa<sup>2+</sup>を除去したものより約15°C高いことが示された。さらに、Ca<sup>2+</sup>の代わりに、他の二価金属イオンCd<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Sr<sup>2+</sup>、Ba<sup>2+</sup>を添加したところ、LH1-RCの熱耐性は天然型とCa<sup>2+</sup>添加のものより低く、Ca<sup>2+</sup>を除去したものより高いことから、これらの金属イオンもある程度LH1複合体と結合できることを示唆した。この結果はこれまで推測していた「LH1中にあるCa<sup>2+</sup>-binding siteに、Ca<sup>2+</sup>が結合すると色素の配向構造が強く保持され、色素膜タンパク質複合体全

体としての構造安定性が高められた」ことを強く支持している。この微生物が生息する米国イエローストーン国立公園の温泉周辺に豊富な炭酸カルシウムが存在することから、進化の過程において環境適応のためにCa<sup>2+</sup>が取り入れられたものと考えられる。

### 3. 周辺光捕集複合体LH2

#### 3.1. LH2の構造と分光学的多様性

1995年に、*Rps. acidophila* 10050株から単離されたLH2の高分解構造<sup>58)</sup>が発表されてから、さらに二つの構造が加わった。1つは *Phaeospirillum* (*Phs.*) *molischianum* 由来のもので、*Rps. acidophila* のLH2が9組のαβ対からなるのに対して、8組のαβから構成されている<sup>59)</sup>。この二種類のLH2はともに800 nmと850 nmに吸収極大をもつ (B800-850タイプ) が、800 nmに吸収を示すBChl *a* (B800)に配位するアミノ酸残基は、*Rps. acidophila* の場合α鎖のN末端COO-Met1であるのに対し<sup>60)</sup>、*Phs. molischianum* の場合N末端領域にあるAsp6である。また、B800色素の配向は両者の間では違うため、異なる円偏光二色性(CD)スペクトルを示す<sup>61)</sup>。もう一つの構造はlow-light条件下で培養した*Rps. acidophila* 7050株から得られたもので<sup>62)</sup>、800 nmと820 nmに吸収極大を示すことからB800-820タイプのLH2と呼ばれている (LH3とも呼ばれていたが、現在LH2に分類されている)。B800-820は、*Rps. acidophila* B800-850と同様αβの9量体で構成される。両者の違いは主にα鎖アミノ酸配列の違いに起因することがわかっている。B800-850の場合、B850 BChl *a*のC3-acetyl基と水素結合をつくるTyr44とTrp45が、B800-820の場合水素結合が形成できないPheとLeuにそれぞれ変わっている。さらに、B820 BChl *a*のC13<sup>1</sup>-keto基が水素結合をもたず、フリーの状態であることが明らかになった。他の実験結果と合わせて、これらの水素結合の欠如による色素の回転自由度の増加が吸収極大のブルーシフトをもたらす主要な原因であると考えられている。一方、low-light条件下での*Rps. palustris* 2.1.6から得られたLH2の低分解電子密度マップ (7.5Å) が報告された<sup>63)</sup>。*Phs. molischianum*のLH2と同じαβの8量体で構成され、800 nm に1つの吸収極大を示す (B800-LH2、LH4とも呼ばれる)。これまで8量体と報告されたLH2はこの二つだけで、前述の *Rps. acidophila* に加え、*Rba. sphaeroides*、*Rhv. sulfidophilum*、*Rvi. gelatinosus*からのLH2は全て9量体で構成されている。

#### 3.2. LH2構成タンパク質の多様性

今まで高分解能の立体構造が報告されたLH2は全て一種類のαβポリペプチドから構成されている。しかし、古くからLH2をもつ多くの紅色細菌から複数種類のαβポリペプチドが単離されてきた。これらのポリペプチド間におけるアミノ酸の相同性は高く、培養条件によって組成が変化する。また、近年ゲノム解析からLH2をコードする遺伝子*pucBA*が多くの菌体において複数存在することが明らかになった。*Rps. palustris*のゲノムには、相同性の高い5つの*pucBA<sub>a-e</sub>*が同定され、この内1対(*pucB<sub>e</sub>A<sub>e</sub>*)のみが遺伝子下流に*pucC*を伴う従来*puc*と呼ばれてきたoperon内に存在する。これらの遺伝子の発現は光強度によって制御され、high-light (>1000 lux)の条件下では3組のαβポリペプチドが発現する。

*Rps. acidophila* 10050と7050株から、それぞれ少なくとも相同性の高い4つの*pucBA*が確認された。これらの遺伝子の発現産物にはC末端領域のプロセッシングを受けるものが多いが、その仕組みと理由についてはわかっていない。また、長年 *puc* operon 内に1対の*pucBA* しかないと言われてきた *Rba. sphaeroides* のChromosome 1 から新たに *puc2BA* が見出された<sup>64)</sup>。*puc2B*がコードするポリペプチドは既知のLH2βと94%の相同性をもつものに対し、*puc2A*がコードするタンパク質は既知のLH2α(54残基)よりはるかに長い263残基を有することがわかった。実際*puc2BA*の発現は確認されたが、*puc2B*由来のポリペプチドがLH2複合体の約30%を占めているのに対して、*puc2A*由来のタンパク質またはその断片がLH2複合体に組み込まれていないことが判明している。さらに、最近では紅色硫黄細菌のLH2遺伝子もよく調べられるようになってきた。*Alc. vinosum*のゲノムには、少なくとも6つの*pucBA*が同定され、うち2つが*puc* operonに存在する<sup>65)</sup>。これまで同菌体より、αポリペプチドが3つ、βポリペプチドが4つそれぞれ単離されている<sup>10)</sup>。好熱菌*Tch. tepidum*の遺伝子解析から3つの*pucBA*が検出され、うち2つが*puc* operonに位置する<sup>66)</sup>。同菌種には、αとβポリペプチドが各3つずつ確認されている。

#### 4. 機能の理解から機能調節機構の解明へ

光合成細菌はシンプルな構造をもちながら、高温・高酸性・高塩濃度などの極限的な環境下でも生き抜く

能力をもっている。これまで、紅色細菌における各種色素膜タンパク質複合体の立体構造の情報がその後の機能解明に大きく貢献してきた。今後もこのような「構造に基づく機能の理解」という流れは変わらないであろう。一方、環境変化に応じて、機能がどのように変わり、それを可能にするためには構成成分とその構造がどのように変化するかという環境適応に関する仕組みの分子レベルでの解明が大きく前進するものと考えられる。紅色細菌の明反応系については、構造と配列情報の蓄積により、既にこのような研究が可能になりつつある。この中で、LH1複合体だけは高分解能の立体構造がまだ得られていない“missing ring”になっている。原子レベルでの構造決定が当面の急務であり、そのための努力が今も続けられている<sup>67)</sup>。LH1複合体の構造解明によって、それ自体の分光学的特徴に加え、RCとbc<sub>1</sub>複合体間におけるキノン輸送の経路、LH1とRC間の相互作用形態、LH1ポリペプチドにおける様々な修飾とαβ以外のマイナー成分 (PufX、Protein Ω、Protein W及びその他未知のタンパク質) の役割など、多くの貴重な情報が得られると期待できる。これまで、LH1αとβが1:1の組成比で存在し、LH1とRCとの比率もほぼ一定であるとされてきた。しかし、AFMの観察からLH1の形状とサイズがともに不均一性を示し<sup>68)</sup>、また色素とタンパク質の組成を調べた実験から光強度によってこれらの組成が大きく変化することが報告されている<sup>69)</sup>。これらの結果は、LH1も環境変化に応じて構造と組成が変化し、この柔軟性が光捕集だけでなく、キノン輸送にも重要な役割を果たすことを示唆している。

LH1に比べ、LH2は環境の変化により敏感に反応する。その結果として様々な吸収スペクトルを示す複合体の構造とタンパク質組成の多様性を生み出している。現在立体構造がわかっているLH2は、αβポリペプチドが一对のみからなっている8量体または9量体に限られる。しかし、通常の培養条件下でも複数種類のLH2αβが発現されるものが多い。このような場合、図5に示す二通りの組合せが考えられる。(a)では、1つの複合体が一種類のαβのみから構成され、複合体によって構成するαβの種類が異なる。これに対して(b)では、1つの複合体に複数種類のαβが一定の割合で入っている。後者のような構造をもつLH2がまだ確認されていないが、最近それを示唆する分光学的結果が報告されている<sup>70)</sup>。一方、8量体と9量体以外のリング

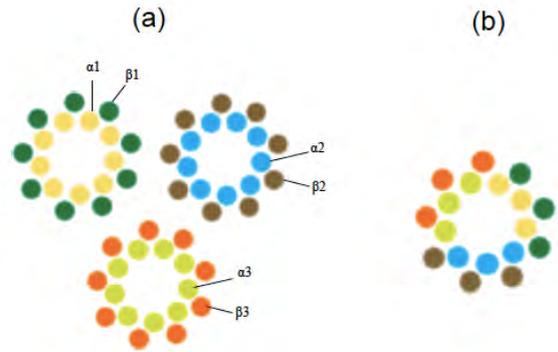


図5 複数種類のLH2ポリペプチドが存在する場合におけるLH2複合体の構造模式図

サイズをもつLH2の存在及びその不均一性を示唆する結果も得られている<sup>71,72)</sup>。LH2複合体の構造とそれによる分光学的性質への影響について既に多くのことがわかってきたが、複合体を構成する単位の数が何によって決まるのか、複数種類のαβがどのようにLH2に組み込まれるかなどについては依然として不明である。今後、これらの課題の解決に向けて、さらに地道な努力を重ねることが必要であると考えられる。

### 謝辞

以下の文献に名前を記載させて頂いた共同研究者に感謝いたします。また、本稿執筆の機会を与えてくださった永島賢治博士に感謝いたします。

Received July 6, 2010, Accepted July 16, 2010, Published August 31, 2010

### 参考文献

1. Kühlbrandt, W. (2001) Chlorophylls galore. *Nature* 411, 896-899.
2. Green, B. R., and Parson, W. W. (2003) *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
3. Frank, H. A. (1999) *The Photochemistry of Carotenoids*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
4. 三室守 (2000) 多様なアンテナ系 「電子と生命」, 共立出版.
5. 田中歩 (2000) 光りを捕らえる-アンテナ色素系 「生命を支える光」, 共立出版.
6. 小林正美, 大橋俊介. (2006) 光合成微生物の色素-クロロフィル, 「光合成微生物の機能と応用」 pp 38-55, CMC出版.
7. Parkes-Loach, P. S., Sprinkle, J. R., and Loach, P. A. (1988) Reconstitution of the B873 light-harvesting

- complex of *Rhodospirillum rubrum* from the separately isolated  $\alpha$ - and  $\beta$ - polypeptides and bacteriochlorophyll *a*. *Biochemistry* 27, 2718-2727.
8. Wang, Z.-Y., Muraoka, Y., Nagao, M., Shibayama, M., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2003) Determination of the B820 subunit size of a bacterial core light-harvesting complex by small-angle neutron scattering. *Biochemistry* 42, 11555-11560.
  9. Wang, Z.-Y., Muraoka, Y., Shimonaga, M., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2002) Selective detection and assignment of the solution NMR signals of bacteriochlorophyll *a* in a reconstituted subunit of a light-harvesting complex. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 1072-1078.
  10. Brunisholz, R. A., and Zuber, H. (1992) Structure, function and organization of antenna polypeptides and antenna complexes from the three families of *Rhodospirillaneae*. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 15, 113-140.
  11. Nagashima, S., Shimada, K., Matsuura, K., and Nagashima, K. V. P. (2002) Transcription of three sets of genes coding for the core light-harvesting proteins in the purple sulfur bacterium, *Allochromatium vinosum*. *Photosynth. Res.* 74, 269-280.
  12. Tuschak, C., Leung, M. M., Beatty, J. T., and Overmann, J. (2005) The *puf* operon of the purple sulfur bacterium *Amoebobacter purpureus*: structure, transcription and phylogenetic analysis. *Arch. Microbiol.* 183, 431-443.
  13. Nozawa, T., Ohta, M., Hatano, M., Hayashi, H., and Shimada, K. (1985) Sequence homology and structural similarity among B870 (B890) polypeptides of purple photosynthetic bacteria and the mode of bacteriochlorophyll binding. *Chem. Lett.*, 343-346.
  14. Zuber, H., and Cogdell, R. J. (1995) Structure and organization of purple bacterial antenna complexes, in *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria* (Blankenship, R. E., Madigan, M. T., and Bauer, C. D., Eds.) pp 315-348, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
  15. Wang, Z.-Y., Shimonaga, M., Suzuki, H., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2003) Purification and characterization of the polypeptides of core light-harvesting complexes from purple sulfur bacteria. *Photosynth. Res.* 78, 133-141.
  16. Sekine, F., and Wang, Z.-Y. (2010) Acc. No: AB543090, DNA Data Bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-j.html>)
  17. Wagner-Huber, R., Brunisholz, R. A., Bissig, I., Frank, G., Suter, F., and Zuber, H. (1992) The primary structure of the antenna polypeptides of *Ectothiorhodospira halochloris* and *Ectothiorhodospira halophila*. *Eur. J. Biochem.* 205, 917-925.
  18. Bérard, J., Bélanger, G., Corriveau, P., and Gingras, G. (1986) Molecular cloning and sequence of the B880 holochrome gene from *Rhodospirillum rubrum*. *J. Biol. Chem.* 261, 82-87.
  19. Nagashima, K. V. P., Matsuura, K., Ohshima, S., and Shimada, K. (1994) Primary structure and transcription of genes encoding B870 and photosynthetic reaction center apoproteins from *Rubrivivax gelatinosus*. *J. Biol. Chem.* 269, 2477-2484.
  20. Wang, Z.-Y., Shimonaga, M., Muraoka, Y., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2001) Methionine oxidation and its effect on the stability of reconstituted subunit of light-harvesting complex from *Rhodospirillum rubrum*. *Eur. J. Biochem.* 268, 3375-3382.
  21. Wang, Z.-Y., Shimonaga, M., Muraoka, Y., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2001) Re-identification of the N-terminal amino acid residue and its modification of  $\beta$ -polypeptide of light-harvesting complex I from *Rhodospirillum rubrum*. *Photosynth. Res.* 70, 321-323.
  22. Wang, Z.-Y., Shimonaga, M., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2002) N-terminal methylation of the core light-harvesting complex in purple photosynthetic bacteria. *FEBS Lett.* 519, 164-168.
  23. Holuigue, L., Lucero, H. A., and Vallejos, R. H. (1985) Protein phosphorylation in the photosynthetic bacterium *Rhodospirillum rubrum*. *FEBS Lett.* 181, 103-108.
  24. Holmes, N. G., and Allen, J. F. (1988) Protein phosphorylation in chromatophores from *Rhodospirillum rubrum*. *Biochim. Biophys. Acta* 935, 72-78.
  25. Ghosh, R., Ghosh-Eicher, S., DiBerardino, M., and Bachofen, R. (1994) Protein phosphorylation in *Rhodospirillum rubrum*: purification and characterization of a water-soluble B873 protein kinase and a new component of the B873 complex,  $\Omega$ , which can be phosphorylated. *Biochim. Biophys. Acta* 1184, 28-36.
  26. Brand, M., Garcia, A. F., Pucheu, N., Meryandini, A., Kerber, N., Tadros, M. H., and Drews, G. (1995) Phosphorylation of the light-harvesting polypeptide LH1a of *Rhodobacter capsulatus* at serine after membrane insertion under chemotrophic and phototrophic growth conditions. *Biochim. Biophys. Acta* 1231, 169-175.
  27. Kerber, N., Pucheu, N., Tadros, M. H., Drews, G., and Garcia, A. F. (1998) The phosphorylation of light-harvesting polypeptides LH1 $\alpha$  (B870) and LHIII $\alpha$  (B800-850) of *Rhodobacter capsulatus* B10 was higher under chemotrophic oxic than under phototrophic anoxic growth conditions. *Curr. Microbiol.* 37, 32-38.
  28. Iustman, L. J. R., Pucheu, N., Kerber, N., Vandekerckhove, J., Tadros, M. H., and Garcia, A. F. (2001) Phosphorylation of LHI b during membrane synthesis in the photosynthetic bacterium *Rhodovulum sulfidophilum*. *Curr. Microbiol.* 42, 323-329.
  29. Holden-Dye, K., Crouch, L. I., and Jones, M. R. (2008) Structure, function and interaction of the PufX protein. *Biochim. Biophys. Acta* 1777, 613-630.
  30. Tsukatani, Y., Matsuura, K., Masuda, S., Shimada, K., Hiraishi, A., and Nagashima, K. V. P. (2004)

- Phylogenetic distribution of unusual triheme to tetraheme cytochrome subunit in the reaction center complex of purple bacteria. *Photosynth. Res.* 79, 83-91.
31. Farchaus, J. W., Barz, W. P., Grünberg, H., and Oesterhelt, D. (1992) Studies on the PufX polypeptide and its requirement for photoheterotrophic growth in *Rhodobacter sphaeroides*. *EMBO J.* 11, 2779-2788.
  32. Barz, W. P., Francia, F., Venturoli, G., Melandri, B. A., Vermeglio, A., and Oesterhelt, D. (1995) Role of PufX protein in photosynthetic growth of *Rhodobacter sphaeroides*. 1. PufX is required for efficient light-driven electron transfer and photophosphorylation under anaerobic conditions. *Biochemistry* 34, 15235-15247.
  33. Barz, W. P., Vermeglio, A., Francia, F., Venturoli, G., Melandri, B. A., and Oesterhelt, D. (1995) Role of PufX protein in photosynthetic growth of *Rhodobacter sphaeroides*. 2. PufX is required for efficient ubiquinone/ubiquinol exchange between the reaction center Q<sub>B</sub> site and the cytochrome bc<sub>1</sub> complex. *Biochemistry* 34, 15248-15258.
  34. Francia, F., Wang, J., Venturoli, G., Melandri, B. A., Barz, W. P., and Oesterhelt, D. (1999) Reaction center-LH1 antenna complex of *Rhodobacter sphaeroides* contains one PufX molecule which is involved in dimerization of this complex. *Biochemistry* 38, 6834-6845.
  35. Gubellini, F., Francia, F., Busselez, J., Venturoli, G., and Lévy, D. (2006) Functional and structural analysis of the photosynthetic apparatus of *Rhodobacter veldkampii*. *Biochemistry* 45, 10512-10520.
  36. Busselez, J., Cottevieille, M., Cuniasse, P., Gubellini, F., Boisset, N., and Lévy, D. (2007) Structural basis for the PufX-mediated dimerization of bacterial photosynthetic core complex. *Structure* 15, 1674-1683.
  37. Recchia, P. A., Davis, C. M., Lilburn, T. G., Beatty, J. T., Parkes-Loach, P. S., Hunter, C. N., and Loach, P. A. (1998) Isolation of the PufX protein from *Rhodobacter capsulatus* and *Rhodobacter sphaeroides*: Evidence for its interaction with the  $\alpha$ -polypeptide of the core light-harvesting complex. *Biochemistry* 37, 11055-11063.
  38. Parkes-Loach, P. S., Law, C. J., Recchia, P. A., Kehoe, J., Nehrlich, S., Chen, J., and Loach, P. A. (2001) Role of the core region of the PufX protein in inhibition of reconstitution of the core light-harvesting complexes of *Rhodobacter sphaeroides* and *Rhodobacter capsulatus*. *Biochemistry* 40, 5593-5601.
  39. Francia, F., Wang, J., Zischka, H., Venturoli, G., and Oesterhelt, D. (2002) Role of the N- and C-terminal regions of the PufX protein in the structural organization of the photosynthetic core complex of *Rhodobacter sphaeroides*. *Eur. J. Biochem.* 269, 1877-1885.
  40. Qian, P., Hunter, C. N., and Bullough, P. A. (2005) The 8.5 Å projection structure of the core RC-LH1-PufX dimer of *Rhodobacter sphaeroides*. *J. Mol. Biol.* 349, 948-960.
  41. Abresch, E. C., Axelrod, H. L. A., Beatty, J. T., Johnson, J. A., Nechushtai, R., and Paddock, M. L. (2005) Characterization of highly purified, fully active, crystallizable RC-LH1-PufX core complex from *Rhodobacter sphaeroides*. *Photosynth. Res.* 86, 61-70.
  42. Onodera, S., Suzuki, H., Shimada, Y., Kobayashi, M., Nozawa, T., and Wang, Z.-Y. (2007) Overexpression and characterization of the *Rhodobacter sphaeroides* PufX membrane protein in *Escherichia coli*. *Photochem. Photobiol.* 83, 139-144.
  43. Wang, Z.-Y., Suzuki, H., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2007) Solution structure of the *Rhodobacter sphaeroides* PufX membrane protein: Implications for the quinone exchange and protein-protein interactions. *Biochemistry* 46, 3635-3642.
  44. Tunnicliffe, R. B., Ratcliffe, E. C., Hunter, C. N., and Williamson, M. P. (2006) The solution structure of the PufX polypeptide from *Rhodobacter sphaeroides*. *FEBS Lett.* 580, 6967-6971.
  45. Kleiger, G., and Eisenberg, D. (2002) GXXXG and GXXXA motifs stabilize FAD and NAD(P)-binding Rossmann folds through C $\alpha$ -HO hydrogen bonds and van der Waals interactions. *J. Mol. Biol.* 323, 69-76.
  46. Russ, W. P., and Engelman, D. M. (2000) The GxxxG motif: a framework for transmembrane helix-helix association. *J. Mol. Biol.* 296, 911-919.
  47. Kleiger, G., Grothe, R., Mallick, P., and Eisenberg, D. (2002) GXXXG and AXXXA: common  $\alpha$ -helical interaction motifs in proteins, particularly in extremophiles. *Biochemistry* 41, 5990-5997.
  48. Strahlberg, H., Dubochet, J., Vogel, H., and Ghosh, R. (1998) The reaction center of the photounit of *Rhodospirillum rubrum* is anchored to the light-harvesting complex with four-fold rotational disorder. *Photosynth. Res.* 55, 363-368.
  49. Strahlberg, H., Dubochet, J., Vogel, H., and Ghosh, R. (1998) Are the light-harvesting I complexes from *Rhodospirillum rubrum* around the reaction center in a square geometry. *J. Mol. Biol.* 282, 819-831.
  50. Karrasch, S., Bullough, P. A., and Ghosh, R. (1995) The 8.5 Å projection map of the light-harvesting complex I from *Rhodospirillum rubrum* reveals a ring composed of 16 subunits. *EMBO J.* 14, 631-638.
  51. Roszak, A. W., Howard, T. D., Southall, J., Gardiner, A. T., Law, C. J., Isaac, N. W., and Cogdell, R. J. (2003) Crystal structure of the RC-LH1 core complex from *Rhodospseudomonas palustris*. *Science* 302, 1969-1972.
  52. Permentier, H. P., Neerken, S., Overmann, J., and Amesz, J. (2001) A bacteriochlorophyll *a* antenna complex from purple bacteria absorbing at 963 nm. *Biochemistry* 40, 5573-5578.
  53. Garcia, D., Parot, P., Vermeglio, A., and Madigan, M. T. (1986) The light-harvesting complexes of a thermophilic purple sulfur photosynthetic bacterium *Chromatium tepidum*. *Biochim. Biophys. Acta* 850, 390-395.
  54. Nozawa, T., Fukuda, T., Hatano, M., and Madigan, M.

- T. (1986) Organization of intracytoplasmic membranes in a novel thermophilic purple photosynthetic bacterium as revealed by absorption, circular dichroism and emission spectra. *Biochim. Biophys. Acta* 852, 191-197.
55. Tuschat, C., Beatty, J. T., and Overmann, J. (2004) Photosynthesis genes and LH1 proteins of *Roseospirillum parvum* 930I, a purple non-sulfur bacterium with unusual spectral properties. *Photosynth. Res.* 81, 181-199.
56. Kimura, Y., Hirano, Y., Yu, L.-J., Suzuki, H., Kobayashi, M., and Wang, Z.-Y. (2008) Calcium ions are involved in the unusual red shift of the light-harvesting 1  $Q_y$  transition of the core complex in thermophilic purple sulfur bacterium *Thermochromatium tepidum*. *J. Biol. Chem.* 283, 13867-13873.
57. Kimura, Y., Yu, L.-J., Hirano, Y., Suzuki, H., and Wang, Z.-Y. (2009) Calcium ions are required for the enhanced thermal stability of the light-harvesting-reaction center core complex from thermophilic purple sulfur bacterium *Thermochromatium tepidum*. *J. Biol. Chem.* 284, 93-99.
58. McDermott, G., Prince, D. M., Freer, A. A., Hawthornthwaite-Lawless, A. M., Papiz, M. Z., Cogdell, R. J., and Isaac, N. W. (1995) Crystal structure of an integral membrane light-harvesting complex from photosynthetic bacteria. *Nature* 374, 517-521.
59. Koepke, J., Hu, X., Muenke, C., Schulten, K., and Michel, H. (1996) The crystal structure of the light-harvesting complex II (B800-B850) from *Rhodospirillum rubrum*. *Structure* 4, 581-597.
60. Papiz, M. Z., Prince, S. M., Howard, T., Cogdell, R. J., and Isaac, N. W. (2003) The structure and thermal motion of the B800-850 LH2 complex from *Rps. acidophila* at 2.0 Å resolution and 100K: new structural feature and functionally relevant motions. *J. Mol. Biol.* 326, 1523-1538.
61. Georgakopoulou, S., Frese, R. N., Johnson, E., Koolhaas, C., Cogdell, R. J., van Grondelle, R., and van der Zwan, G. (2002) Absorption and CD spectroscopy and modeling of various LH2 complexes from purple bacteria. *Biophys. J.* 82, 2184-2197.
62. McLuskey, K., Prince, S. M., Cogdell, R. J., and Isaac, N. W. (2001) The crystallographic structure of the B800-820 LH3 light-harvesting complex from the purple bacteria *Rhodospseudomonas acidophila* strain 7050. *Biochemistry* 40, 8783-8789.
63. Hartigan, N., Tharia, H. A., Sweeney, F., Lawless, A. M., and Papiz, M. Z. (2002) The 7.5-Å electron density and spectroscopic properties of a novel low-light B800 LH2 from *Rhodospseudomonas palustris*. *Biophys. J.* 82, 963-977.
64. Zeng, X., Choudhary, M., and Kaplan, S. (2003) A second and unusual *pucBA* operon of *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1: genetics and function of the encoded polypeptides. *J. Bacteriol.* 185, 6171-6184.
65. Lucas, S., Copeland, A., Lapidus, A., Cheng, J.-F., Bruce, D., Goodwin, L., Pitluck, S., Munk, A. C., Detter, J. C., Han, C., Tapia, R., Larimer, F., Land, M., Hauser, L., Kyrpides, N., Ivanova, N., Zigann, R., Dahl, C., and Woyke, T. (2010) Acc. No: NC\_013851, GenBank ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC\\_013851](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_013851))
66. Sekine, F., and Wang, Z.-Y. (2009) Acc. No: AB518069; AB519152, DNA Data Bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-j.html>)
67. Suzuki, H., Hirano, Y., Kimura, Y., Takaichi, S., Kobayashi, M., Miki, K., and Wang, Z.-Y. (2007) Purification, characterization and crystallization of the core complex from thermophilic purple sulfur bacterium *Thermochromatium tepidum*. *Biochim. Biophys. Acta* 1767, 1057-1063.
68. Bahatyrova, S., Frese, R. N., van der Werf, K. O., Otto, C., Hunter, C. N., and Olsen, J. D. (2004) Flexibility and size heterogeneity of the LH1 light-harvesting complex revealed by atomic force microscopy. *J. Biol. Chem.* 279, 21327-21333.
69. Akiyama, M., Nagashima, K. V. P., Inoue, R., Wakayama, T., Kise, H., Hara, M., and Kobayashi, M. (2002) Variation in the size of light harvesting 1 of purple bacteria. *J. Photosci.* 9, 350-352.
70. Brotsudarmo, T. H. P., Kunz, R., Böhm, P., Gardiner, A. T., Moulisová, V., Cogdell, R. J., and Köhler, J. (2009) Single-molecule spectroscopy reveals that individual low-light LH2 complexes from *Rhodospseudomonas palustris* 2.1.6. have a heterogeneous polypeptide composition. *Biophys. J.* 97, 1491-1500.
71. Scheuring, S., Rigaud, J.-L., and Sturgis, J. N. (2004) Variable LH2 stoichiometry and core clustering in native membrane of *Rhodospirillum rubrum*. *EMBO J.* 23, 4127-4133.
72. Kereïche, S., Bourinet, L., Keegstra, W., Arteni, A. A., Verbavatz, J.-M., Boekema, E. J., and Gall, A. (2008) The peripheral light-harvesting complexes from purple sulfur bacteria have different 'ring' sizes. *FEBS Lett.* 582, 3650-3656.

## Diversity of the Light-Harvesting Proteins in Purple Photosynthetic Bacteria

Seiu Otomo (Z.-Y. Wang)\*

Faculty of Science, Ibaraki University