

Title	Structure of the light-harvesting bacteriochlorophyll c assembly in chlorosomes as studied by ^{13}C — ^{13}C distance analysis using solid-state NMR
Author(s)	江川, 文子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/49719
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	江川文子
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 22565 号
学位授与年月日	平成 20 年 12 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	Structure of the light-harvesting bacteriochlorophyll <i>c</i> assembly in chlorosomes as studied by ^{13}C - ^{13}C distance analysis using solid-state NMR (固体 NMR による ^{13}C - ^{13}C 距離解析で得られたクロロゾーム中アンテナ系バクテリオクロロフィル <i>c</i> 複合体の構造)
論文審査委員	(主査) 教授 藤原 敏道 (副査) 教授 鈴木晋一郎 教授 水谷 泰久 招へい教授 阿久津秀雄

論文内容の要旨

本論文は、固体 NMR を使って緑色光合成細菌のクロロゾーム中アンテナ系バクテリオクロロフィル *c* (BChl *c*) の高次会合体の構造を決定するもので、次の 4 章で構成されている。

第 1 章では構造生物学における固体 NMR の基本的な技術とその応用研究について、また本研究のターゲットである光合成細菌アンテナ系の基本的な機能と構造について、要約されている。それをふまえて、本研究の背景と目的を明らかにしている。

第 2 章では、 ^{13}C 完全標識した BChl *c* 高次会合体に ^{13}C 固体 NMR 法を適用した。共有結合炭素間の双極子結合を利用して、NMR 信号の化学シフトへの帰属を完了した。次に 2 次元 ^1H 駆動 ^{13}C スピン拡散法を適用して、約 100 個の ^{13}C 間距離相関を得ることに成功した。ここで、 ^{13}C 完全標識試料から 7 Å までの距離を高精度に得るために、すべての信号を定量化し炭素間分極移動速度を算出した。また、実験スペクトルからゼロ量子密度関数を計算し、その値を用いて摂動論から分極移動速度を炭素間距離に変換した。さらに、この距離を拘束条件に帰属と構造の最適化を再帰的に行った。決定した原子分解能のクロロゾーム構造から、BChl *c* 分子が重なって水素結合で結ばれた 2 量体が単位となっていること、その 2 量体は分子平面と平行に連なった分子層を形成し、その層の向きが同一方向になるように積み重なって平面を作っていることがわかった。また、分光学や電子顕微鏡などの研究から報告されている円柱エレメントを形成しうる構造であることが確認できた。これは、長年議論されていたクロロゾームの光吸収と励起エネルギー移動の機構を担う構造を原子分解能で解明することを可能にした。

第 3 章では、この BChl *c* 複合体構造決定のために、新たに ^{13}C 完全標識分子について、多数の正確な核間距離をスピン拡散固体 NMR 法から得て構造を求める方法を明らかにした。これまで、 ^{13}C 完全標識試料について ^{13}C スピン拡散法で距離情報を得ようとする構造決定に必要な遠距離情報が得られない、多くの相互作用が分極移動に影響して正確な距離が得られないなど、多くの問題があった。そこで、得られる ^{13}C 間距離の上限、距離精度、分極移動行列法の有効性、強い双極子結合を弱める効果、分極移動速度から距離を

求める方法とその妥当性などを理論的、実験的に解析した。その結果、分極移動速度は摂動理論に基づく解析により誤差約 30–40% で ^{13}C 間距離を求められることが明らかになった。この結果は、今回のプロトン駆動スピンの拡散法を使った分極移動行列解析で得られる多数の距離が、構造解析に有効な精度で得られることを示すことができた。

第 4 章では、本研究の結果について総括している。また、固体 NMR ^{13}C スピン拡散の分極移動行列解析による ^{13}C 間距離を使った構造決定法を他の生体高分子に応用できる可能性について述べている。

論文審査の結果の要旨

申請者は、 ^{13}C 完全標識した無配向の生体分子集合体について、固体 NMR により多数の炭素原子間距離を求めて、構造を決める方法を開発し、これを緑色光合成細菌のクロロゾーム中アンテナ系バクテリオクロフィル *c* (BChl *c*) の高次集合体の構造決定に応用した。この集合体は、結晶にならずまた可溶化すると高次構造が変わるため、結晶構造解析や溶液 NMR 法が適用できず、原子分解能の構造が不明であった。

最初に申請者は、共有結合炭素間の双極子結合を利用して、NMR 信号の化学シフトへの帰属を完了した。次に 2 次元 ^1H 駆動 ^{13}C スピン拡散法を適用して、約 100 個の ^{13}C 間距離相関を得ることに成功した。ここで、 ^{13}C 完全標識試料から 7 Å までの距離を高精度に得るために、すべての信号を定量化し炭素間分極移動速度を算出した。また、実験スペクトルからゼロ量子密度関数を計算し、その値を用いて摂動論から分極移動速度を炭素間距離に変換した。さらに、この距離を拘束条件に帰属と構造の最適化を再帰的に行った。決定した原子分解能のクロロゾーム構造から、BChl *c* 分子が重なって水素結合で結ばれた 2 量体が単位となっていること、その 2 量体は分子平面と平行に連なった分子層を形成し、その層の向きが同一方向になるように積み重なって平面を作っていることがわかった。また、分光学や電子顕微鏡などの研究から報告されている円柱エレメントを形成している構造であることが確認できた。これは、長年議論されていたクロロゾームの光吸収と励起エネルギー移動の機構を担う構造を原子分解能で解明することを可能にした。

また申請者は、この BChl *c* 複合体構造決定のために、新たに ^{13}C 完全標識分子について、多数の正確な核間距離をスピンドiffusion 固体 NMR 法から得て構造を求める方法を明らかにした。これまで、 ^{13}C 完全標識試料について ^{13}C スピン拡散法で距離情報を得ようとすると構造決定に必要な遠距離情報が得られない、多くの相互作用が分極移動に影響して正確な距離が得られないなど、多くの問題があった。そこで、得られる ^{13}C 間距離の上限、距離精度、分極移動行列法の有効性、強い双極子結合を弱める効果、分極移動速度から距離を求める方法とその妥当性などを理論的、実験的に解析した。その結果、分極移動速度は摂動理論に基づく解析により誤差約 30–40% で ^{13}C 間距離を求められることが明らかになった。この結果で、今回のプロトン駆動スピンドiffusion 法を使った分極移動行列解析で得られる多数の距離が、構造解析に有効な精度で得られることを示すことができた。

このように申請者は、NMR により多数の原子間距離を測定して無配向固体状態の生体分子集合体の構造を決める NMR を開発した。さらに、これを応用して、光捕集アンテナであるバクテリオクロフィル *c* (BChl *c*) の高次集合体の構造を原子分解能で初めて明らかにした。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。