

# 光化学系 II におけるイットリウムによるカルシウムイオンの置換の確認 Confirmation of Y substitution for Ca in photosystem II

藤井萌, 中島芳樹, 沈 建仁  
岡山大学異分野基礎科学研究所

Hajime Fujii, Yoshiki Nakajima, Jian-Ren Shen  
Research Institute for Interdisciplinary Science, Okayama University

## 1 はじめに

光合成は、二酸化炭素と水から有機物を合成し、酸素を放出することで、地球上ほぼすべての生物の生存を支えている。光合成において最初に働いているのは、光化学系 II と呼ばれる、20 個のタンパク質から構成される、分子量 350 kDa の膜タンパク質複合体で、この複合体は光エネルギーを利用して水を分解し、酸素を作り出している。この複合体の結晶構造は申請者らにより 1.9 Å 分解能で解析されており [1, 2], この構造において、水を分解しているのが  $Mn_4CaO_5$  クラスタと呼ばれる化合物であることが分かっている。この  $Mn_4CaO_5$  クラスタは歪んだイス型の形をしており、歪みを作り出している要因の一つは、椅子の座部にあたるキューバン構造が 3 つの Mn イオン、一つの Ca イオンが 4 つの酸素原子によって結び付けられており、そのうちの Ca-O の結合距離が、Mn-O の結合距離よりも長いことである。この Ca イオンの役割はまだはっきりされておらず、これまで Sr による置換で活性が維持可能であることが示されているが、Sr 以外の金属で置換が成功した例は報告されていない。

## 2 実験

我々は Ca イオンの役割を解明するため、Ca をイットリウム(Y)イオンへの置換を試みた。Ca をなくし、Y を入れた培地で好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus vulcanus* を培養し、PSII を単離精製し、確立された結晶化条件で PSII を結晶化した。得られた結晶は確立された凍結条件で液体窒素に凍結し、0.72, 2.7, 3.15 Å という 3 つの波長で回折データを収集し、構造を解析した。

## 3 結果

Ca をなくし、Y を含む培地で培養すると、*T. vulcanus* の生育速度は Ca 培地より遅くなるが、細胞が生育することが分かった。その細胞から PSII を単離精製し、結晶を作製し、X 線による結晶構造解析を行った結果、 $Mn_4CaO_5$  クラスタは Ca 培地で培養した時の構造とほぼ同じであった。Ca の吸収ピークに近い波長 2.7 Å, Y の吸収ピークに近い 3.15 Å で回折データを収集し、構造解析を行った結果を Table 1, 2 に示した通り、それぞれ分解能 2.8 Å, 3.15 Å で構造解析ができた。図 1 に示したように、Ca の

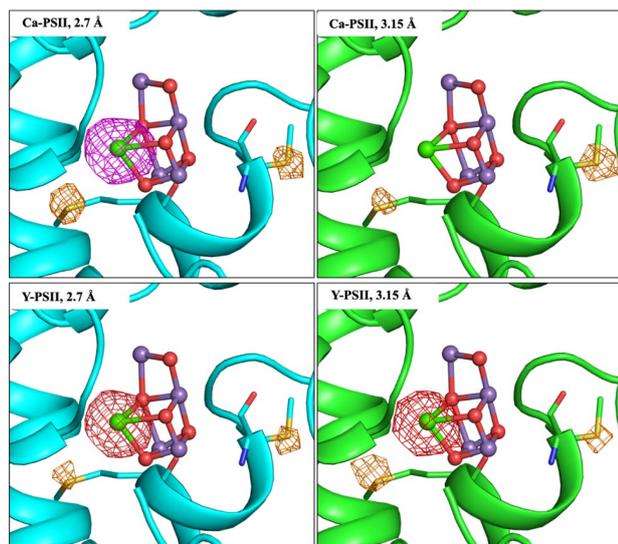
吸収ピークに近い 2.7 Å の波長では、Ca 培地で生育した細胞由来 PSII (Ca-PSII) のみ Ca イオンの場所に大きな異常散乱ピークが見られ、Y 培地で生育した細胞由来 PSII (Y-PSII) では、本来の Ca に対応する場所に異常散乱ピークは見られなかった。このことは、Y 培地で生育した細胞由来 Y-PSII では、Ca がなくなったことを示唆している。一方、Y の吸収ピークに近い 3.15 Å の波長では、Ca-PSII では Ca の場所にも異常散乱ピークが見られたが、Y-PSII でも大きなピークが見られ、これらのことから、Ca が Y に置換されたことが示された。

Table 1. 波長 2.7 Å で得られた各結晶のデータ処理

Beamline	BL-1A, PF, JAPAN	
Wavelength (Å)	2.7 (Y-PSII)	2.7 (Ca-PSII)
Resolution (Å)	50 – 2.8 (2.9 – 2.85)	50 – 2.8 (2.95 – 2.9)
Measured reflections	17,955,883	11,791,809
Unique reflections	392,206	392,258
$R_{merge}$ (%)	28 (239.8)	23.2 (195)
$I/\sigma$	16.57 (1.38)	15.66 (1.56)
$CC_{1/2}$	99.8 (66.4)	99.8 (64.8)
Completeness (%)	99.9 (100)	99.7 (99.9)
Space Group	P212121	P212121
a, b, c (Å)	124.6, 230.0, 286.8	124.9, 230.1, 286.7

Table 2. 波長 3.15 Å で得られた各結晶のデータ処理

Beamline	BL-1A, PF, JAPAN	
Wavelength (Å)	3.15 (Y-PSII)	3.15 (Ca-PSII)
Resolution (Å)	50 – 3.30 (3.4 – 3.3)	50 – 3.30 (3.35 – 3.3)
Measured reflections	10,588,685	4,733,219
Unique reflections	238,365	235,844
$R_{merge}$ (%)	40.8 (215.1)	40.8 (180.2)
$I/\sigma$	16.58 (2.69)	12.25 (2.65)
$CC_{1/2}$	99.3 (77.3)	99.0 (73.0)
Completeness (%)	99.6 (96.8)	99.7 (97.3)
Space Group	P212121	P212121
a, b, c (Å)	124.4, 230.0, 287.0	123.04, 229.78, 287.12



**Fig. 1.** Ca-PSII 及び Y-PSII から収集した回折データから得られた anomalous difference map (マゼンタ:Ca-PSII の Ca 部位に該当, 赤:Y-PSII の Ca 部位に該当, 全図の茶マップ:メチオニンの硫黄由来のマップ),  $7\sigma$ . 図は Mn クラスター周辺を示す。Y-PSII における Mn クラスターはスーパーポーズされ

謝辞

X 線回折実験を行うにあたり, Photon Factory の松垣直宏さんに大変お世話になりました。心より感謝申し上げます。

#### 参考文献

- [1] Umena Y., Kawakami K., Shen J.-R., Kamiya N. Nature, 473, 55-60 (2011).
- [2] Suga M., Akita F., Hirata K., Ueno G., Murakami H., Nakajima Y., Shimizu T., Yamashita K., Yamamoto M., Ago H., Shen J.-R. Nature, 517, 99-103 (2015).

\*shen@okayama-u.ac.jp