

光化学系 II 複合体の酸素発生中心の X 線吸収分光法に基づく立体構造研究 Structural analysis of oxygen evolving complex in photosystem II based on X-ray absorption fine structure spectroscopy

梅名泰史^{1,*}, 朝倉清高², 川上恵典¹, 神谷信夫^{1,3}

¹大阪市立大学複合先端研究機構, 〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

²北海道大学触媒化学研究センター, 〒001-0021 札幌市北区北 21 条西 10

³大阪市立大学理学研究科, 〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

Yasufumi Umena^{1,*}, Kiyotaka Asakura², Keisuke Kawakami¹ and Nobuo Kamiya^{1,3}

^{1,3}3-3-138, Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka, Osaka 558-8585, Japan

²N21-W10, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 001-0021, Japan

1 はじめに

植物や藻類は光合成によって光エネルギーを変換し、そのエネルギーを用いて炭水化物を合成している。このエネルギーの変換反応に伴って水が酸化分解され、生命活動に必須の分子状酸素が大気中に放出されている。これらの反応は葉緑体のチラコイド膜に存在する分子量約 700kDa の光化学系 II 複合体 (photosystem II; PSII) が行っている。PSII の立体構造は 2001 年に初めて報告^[1]されていたが、活性中心の詳細な構造は明らかになっていなかった。2011 年、我々の研究グループは好熱性らん藻由来の PSII の結晶構造を 1.9 Å 分解能で解析し、活性中心に存在する触媒部位: Mn₄CaO₅ クラスタ (oxygen evolving complex; OEC) の立体構造と反応基質と思われる水分子の存在を初めて明らかにした^[2]。しかし、結晶構造は X 線損傷によって構造が変化している可能性が X 線吸収分光法^[3]と量子化学計算^[4]の研究グループから指摘されている。また、個々の Mn 原子の価数を完全に特定できていないため、水分解の化学反応を詳細に理解するまでには至っていない。このため、Mn 原子の価数の特定と X 線損傷の少ない構造の解明が OEC による触媒反応の理解に繋がり、これまでブラックボックスとされていた光合成の酸素発生 の原理解明に繋がるものと期待されている。

本研究は、1.9 Å 分解能の OEC の X 線結晶構造に基づいて、X 線吸収分光法における X 線吸収端近傍構造解析 (XANES) により OEC の Mn の価数を特定し、X 線結晶構造解析よりも X 線損傷の少ない広域 X 線吸収微細構造解析 (EXAFS) を行って OEC の金属原子間距離を精密に確定することにより、「真の OEC」の立体構造を明らかにすることを目指す。本研究では、1.9 Å の原子レベル分解能で決定された OEC の分子構造を初期モデルとして用いることで、より信頼度の高い分析ができるものと思われる。また、現状の 1.9 Å 分解能の結晶構造には 0.16 Å 程度の原子間結合長の誤差があるが、金属とそれを取り巻く原子間の距離を精度よく分析できる EXAFS 解

析を行うことで、より精密な OEC の構造が明らかになると思われる。

2 実験

本実験では、好熱性らん藻 *Thermosynechococcus vulcanus* より抽出・精製された PSII 蛋白質溶液を用いた。本試料をクロロフィル換算で 8 mgChl/ml 程度に濃縮することで OEC 由来の Mn 原子がおおよそ 56 ppm 存在していると試算した。試料には、3 種類の塩 (MgSO₄, NaCl, CaCl₂)、MES 緩衝液 (pH6.0)、構造安定化のための界面活性剤 β-D-ドデシルマルトシドを含んでいた。膜蛋白質であるためこれ以上の高濃度に溶液状態で濃縮することが困難であった。そのため、半導体検出器を用いた蛍光 XAFS 法による分析を試みた。試料は、厚み 5mm のアクリル板に直径 5mm の穴を開けカプトン膜で塞いだサンプルホルダーに封入して測定を行った。

3 結果および考察

今回行った蛍光 XAFS 測定では有意な吸収スペクトルを得ることができなかった。これは作成したサンプルホルダーからの散乱 X 線によるノイズが多いためと考えられる。次回の実験では、異なる形状のサンプルホルダーを複数用意してノイズの軽減に努める予定である。また、PSII の溶液試料では高濃度に調製することが難しいため、PSII 結晶試料を用意し、低温窒素ガス吹きつけ装置で保持した状態での測定を今後検討する予定である。

参考文献

- [1] A.Zouni, et al., *Nature*, **409**, 739-43, (2003)
- [2] Y.Umena, K.Kawakami, J.R. Shen, N.Kamiya *Nature*, **473**, 55-60, (2011)
- [3] Yano, et al., *PNAS*, **102**, 12047-12052, (2005)
- [4] A.Galstyan, et al., *J.Am.Chem.Soc.*, **134**, 7442-7449, (2012)

* umena@ocarina.osaka-cu.ac.jp