

別紙 4

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主 論 文 の 要 旨

論文題目 Structure of the manganese intermediates of photosynthetic oxygen evolving complex revealed by PELDOR

(パルス電子-電子二重共鳴 (PELDOR) 法を用いた光合成酸素発生系 Mn 中間体の構造解析)

氏 名 浅田 瑞枝

論 文 内 容 の 要 旨

地球上の大部分の酸素分子は光合成反応により生産される。植物やシアノバクテリアがもつ光化学系 II は、光合成において酸素発生反応を担うタンパク質複合体である。光合成酸素発生機構は地球上の生命活動の根幹をなす反応であり、反応機構の解明は生物学のみならず物理、化学においても重要な課題である。酸素発生反応過程では、光化学系 II の酸素発生系と呼ばれる部分が触媒として働き、水を分解する。近年の X 線結晶構造解析により、酸素発生系は 4 つの Mn と 1 つの Ca を含む金属クラスター構造を有することがわかっている。しかし結晶構造からだけでは、酸素発生メカニズムを明らかにすることはできない。

タンパク質は、酵素反応など目的に応じて柔軟に構造を変形する高度な触媒反応場である。光化学系 II タンパク質はマンガン錯体を自ら合成した後、酵素反応の反応場を構築している。光化学系 II は進化の過程で洗練され、酸素発生反応に対して最適化された構造をもつようになったと考えられる。しかし、4 つの Mn と 1 つの Ca という金属による錯体構造を選択した理由や、錯体と協調して働くアミノ酸の役割などは不明である。そのため金属の電子状態や周辺タンパク質の役割を原子レベルで解明する必要がある。

申請者は電子常磁性共鳴 (EPR) 測定法の一つであるパルス電子-電子二重共鳴 (PELDOR) 法を用いて (1) 酸素発生反応 S₂ 中間状態における Mn クラスターの磁気構造、(2) Mn クラスター形成過程における光化学系 II の初期構造の解析を行った。

(1) 酸素発生反応において、Mn クラスターは 5 つの循環的な酸化状態 (S₀-S₄) をとる。S₂ 状態では 1 つの III 価、3 つの IV 価 Mn イオンからなると考えられている。申請者は、PELDOR 法を用いて S₂ 状態 Mn クラスターと光化学系 II 内の安定なチロシン

ラジカル $Y_D\cdot$ 間の磁気双極子相互作用を測定した。更に光化学系 II を 2 次元的に配向させた試料を用いて PELDOR 信号強度の磁場角度依存性を測定し、 $Y_D\cdot$ と Mn クラスタそれぞれ原子位置と電子スピン密度分布を比較し、X線結晶構造における各マンガンイオンの価数を明らかにした。更に、マンガン間の磁氣的交換相互作用の符号を明らかにした。

(2) 酸素発生系を除去した光化学系 II は酸素発生活性が失活するが、光化学系 II に Mn^{2+} を加え光照射すると、Mn クラスタが形成され活性が回復する。この反応メカニズムは不明であった。初期暗状態では、1つの Mn^{2+} が特異的に結合するサイトが存在することがわかっている。申請者は特異的な Mn^{2+} 結合サイトの位置を同定するため、 Mn^{2+} と安定なラジカル分子 $Y_D\cdot$ 間の PELDOR 測定を行った。実験結果を X 線結晶構造と比較することにより Mn^{2+} の結合サイトが光化学系 II の D1 タンパク質内の Asp170 と Glu333 の間に位置することを示した。

以上、申請者は得られたマンガンクラスタの磁気構造から個々のマンガンの価数およびマンガン間の相互作用を明らかにした。また、光化学系 II 酸素発生系マンガンクラスタの形成過程における Mn の結合配置と、その近傍アミノ酸残基の機能を明らかにした。