

## 別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 Electron nuclear double resonance study on the structure and mechanisms of the photosynthetic water oxidation center  
(電子核二重共鳴法による光合成水分解系の構造と機能の解明)

氏 名 長嶋宏樹

## 論 文 内 容 の 要 旨

光合成バクテリアから高等植物に至る進化の過程において獲得した酸素発生機構は地球の大気環境を一変させ、現在の地球の生命活動の基盤となっている。光合成反応機構の解明は生物学のみならず物理、化学や地球科学においても重要な課題である。

光合成の反応は光エネルギーを化学エネルギーへの変換を行う光合成反応中心タンパク光化学系 I、II から成り、最終的な電子供与体として水を用いている。両者の間の電子伝達は **Rieske**-シトクロム複合体が媒介する。光化学系 I、光化学系 II は高等植物やシアノバクテリア中に含まれ、それぞれ緑色光合成細菌と紅色光合成細菌の反応中心より進化したと考えられている。それぞれの光合成細菌でも **Rieske**-シトクロム複合体は電子移動の役割を担っている。これらの電子移動や酸化還元電位の調整はタンパク質の局所構造により制御されているが、酸素発生系マンガングラスタールや鉄硫黄グラスタールの詳細な構造とメカニズムの関係は明らかではない。光合成酸素発生反応過程では、光化学系 II の酸素発生系が触媒として働き、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** を含む金属グラスタール構造であ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。マンガングラスタールは5つの異なる酸化状態  $S_0$ - $S_4$  を取ることができる。X 線結晶構造解析により  $S_1$  状態の構造が明らかにされたが、各 **S** 状態の構造変化、水分子の取り込みやプロトン移動、基質となる水分子の位置といった水分解の詳細な機構が解明されていない。また、**Rieske** 鉄硫黄グラスタールは2つの鉄と2つの硫黄から成り、鉄に2つのシステインと2つのヒスチジンが配位する構造をもつ点で共通点はあるものの生物種により様々な酸化還元電位と異なる機能を持つ。

申請者は電子常磁性共鳴(EPR)法を用いて植物やシアノバクテリアの光化学系 II の基質である水の位置情報、および緑色光合成細菌の鉄硫黄 **Rieske** タンパク質の酸化還元電位の制御機構について調べた。

まず、申請者は電子核二重共鳴(ENDOR)法を用いて、 $S_2$ 状態マンガングラスタに配位する水分子のプロトンを検出し、信号の帰属を行い、配置を明らかにした。さらに、生化学的処理により、マンガングラスタから  $Ca^{2+}$ を除去した試料、 $Ca^{2+}$ を  $Sr^{2+}$ に置換した試料を用いてマンガングラスタの構造を調べ、酸素発生機構において  $Ca^{2+}$ が水素結合と電子移動を制御していることを明らかにした。また、メタノール添加、アンモニア添加によって酸素発生系近傍に与える構造的影響を明らかにし、近傍の水素結合の重要性を明らかにした。

さらに、申請者らは電子スピンエコー包絡線変調(ESEEM)法を用いて緑色硫黄細菌 *Chlorobaculum tepidum* の還元型 Rieske 鉄硫黄複合体の磁気構造を調べた。鉄硫黄グラスタ近傍の4種類の窒素核の信号を検出し、ヒスチジン及びペプチドの窒素に同定した。そして磁気構造と分子の構造を対応付け、酸化還元電位制御への影響を明らかにした。