

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 光合成水分分解系の構造と機能の解明

長嶋宏樹

博士学位論文の要約

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 Rieseke-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 Rieseke-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や鉄硫黄クラスター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 を含む金属クラスター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、Rieseke 鉄硫黄クラスターは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 Rieseke 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ー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、マンガングラスターから 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ーの構造を調べ、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 Rieseke 鉄硫黄複合体の磁気構造を調べた。鉄硫黄クラスター近傍の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。