

別紙 4

報告番 -	※ -	第
----------	--------	---

主 論 文 の 要 旨

論文題目 Molecular mechanisms of proton-coupled electron transfer and water oxidation in photosystem II (光化学系 II におけるプロトン共役電子移動および水分解反応の分子機構)

氏 名 中村 伸

論 文 内 容 の 要 旨

植物およびシアノバクテリアの光化学系 II タンパク質に存在する Mn クラスタは、光合成水分解反応の触媒部位として機能する。Mn クラスタには、光酸化により遷移する 5 つの中間状態(S₀-S₄)が存在し、そのサイクルを 1 周することにより、2 つの水分子が 1 つの酸素分子と 4 つのプロトンに分解される。呼吸生命により消費される大気中の酸素は、この水分解反応により生成される。しかし、水分解反応は電子、プロトンおよび水分子が関与する極めて複雑な反応であるため、その詳細な反応機構は未だ不明である。本研究では、光合成水分解反応の分子機構の解明を目的として、以下の 3 つの未解明な点に着目した。

(1) 酸化還元活性を持つチロシン残基 Y_Z は、電荷分離により生成した反応中心クロロフィル P680 ラジカルカチオンにより酸化され、その後、近傍の Mn クラスタから電子を引き抜くことにより還元状態へと戻る。一方、対称的に位置するチロシン残基 Y_D は、Y_Z と同様に P680 により酸化されるが、水分解反応に直接関与しない。この 2 つのチロシン残基は、それらの反応速度の違いにより、Y_Z の酸化が優先的に起こる。この非対称性は、水分解反応の高い量子効率において必須であるが、その起源は不明である。

(2) 水分解反応において、プロトン放出は極めて重要な反応である。プロトンは、中間状態遷移に伴って段階的に放出されるため、基質水分子やプロトン放出経路などのプロトン放出過程を明らかにすることは、水分解機構の解明に必須である。しかし、結晶構造では Mn クラスタ近傍に複数の水分子および水素結合ネットワークが示されており、プロトン放出の排出機構についての結論は未だ得られていない。

(3) Mn クラスタ近傍のアミノ酸残基は、Mn クラスタの保持だけでなく、水分解反応に直接的に関与していると考えられる。特に、アミノ酸配位子は、Mn クラスタの構造変化において重要な役割を持つ可能性が極めて高い。また、周辺の荷電性アミノ酸による電荷分布は、水分解における酸化還元電位に強く影響を与える。しかし、結晶構造では、水分解における中間状態やプロトンの位置の情報はなく、水分解において重要なアミノ酸残基は特定されていない。

これらの問題点を解決するため、筆者は、フーリエ変換赤外(FTIR)分光法と量子化学計算を組み合わせたアプローチを用いて、(1) 2つのチロシン残基 Y_Z および Y_D のプロトン共役電子移動の反応機構、(2) 水分解におけるプロトン放出機構、(3) Mn クラスタ近傍のアミノ酸残基の水分解における機能、の解明を目指した。

(1) 筆者は、まず、光化学系 II タンパク質を用いた Y_Z の酸化に伴う FTIR 差スペクトルを測定し、高いプロトン分極に起因する幅の広い正のバンドを検出した。Quantum Mechanics/Molecular Mechanics(QM/MM)計算による振動解析から、そのプロトン分極は、 Y_Z から隣接するヒスチジンに移動したプロトンに起因することを示し、 Y_Z の水分解におけるプロトン放出への関与を明らかにした。また、FTIR 法を用いたプロトン検出により、 Y_D の酸化において、そのプロトンはタンパク質外へと放出されることが示された。これらの結果から、 Y_Z および Y_D のプロトン移動距離の違いが、電子移動の非対称性を生む機構であると結論づけた。

(2) Mn クラスタ近傍の水素結合ネットワークの振動構造を QM/MM 計算により解析した。その解析から、非局在化した同位相 OH 伸縮振動の存在を示した。この振動により、グロッタス機構に従う迅速なプロトン移動が可能となる。さらに、QM/MM 計算により予測した Y_Z 周辺の水素結合ネットワークの変化から、水分解における Y_Z を経由する新規なプロトン移動モデルを提唱した。

(3) Mn クラスタのカルボキシル配位子の機能の解明のため、QM/MM 計算によって、それらの振動スペクトルをシミュレーションした。得られた COO⁻対称伸縮振動の振動スペクトルと構造変化の情報から、水分子の反応性がカルボキシル基を介した電荷移動により制御されることを示した。また、近傍アミノ酸のプロトン化構造を明らかにするため、Mn クラスタの中間状態遷移に伴う偏光赤外差スペクトルを測定し、大きな二色比を持つ正負のバンドを観測した。その帰属から、Mn クラスタに直接水素結合を形成するヒスチジンがカチオン型であることを示した。さらに、エネルギー計算の結果から、カチオン型のヒスチジンは、Mn クラスタを高い酸化還元電位に維持する機能を持つことを明らかにした。

以上のように、筆者は赤外分光法を用いて水素結合構造・プロトン化構造を解析することにより、光合成水分解反応に関与するプロトン移動機構を明らかにした。また、振動構造の検出・解析により、他の分光法では検出が困難な微小構造変化を捉え、水分解反応における近傍アミノ酸側鎖の機能を明らかにした。