



● 光化学系 II 結晶中における水分 分解反応：溶液試料と同様に進むのか？

A02 班 研究協力者 加藤 祐樹

光合成の水分解を担う光化学系 II タンパク質複合体の構造は、2000 年代に入って X 線結晶構造解析の研究が進み、原子レベルで明らかにされました[1]。その頃に光合成研究に携わり始めた私は、その構造の精巧さと美しさに感嘆したものです。しかし、水分解反応を触媒しているマンガンクラスターの構造は不明瞭で、完全に明らかになるのはさらに 10 年ほど後になります。それが 2011 年のこと、沈先生・神谷先生のグループにより、光化学系 II 複合体の高品質な結晶試料が作製され、4 つの Mn 原子と 1 つの Ca 原子、5 つの酸素原子によって構成される「歪んだ椅子」型の金属錯体であることが示されました[2]。

こうした生体分子を可視化する X 線結晶構造解析がさらに発展し、最近ではタンパク質内で反応が進む様子を捉えようとする研究が進められています。これまでの構造図が「静止画」だとすれば、いわば「動画」を撮影しようというものです。そのための測定技術が X 線自由電子レーザー(XFEL: X-ray free electron laser)と呼ばれるもので、光化学系 II に対しては水分解反応の追跡に適用され、研究が進められています(人工光合成系への適用については、本新学術研究領域 B02 班の野澤先生による NewsLetter 記事をご参照下さい)。光化学系 II に光を照射すると水分解反応が進行していきませんが、ナノ～マイクロ秒程度の閃光を照射すれば、反応を 1 段階ずつ進めることができます。4 閃光照射すると S 状態と呼ばれる 5 つの中間状態を経て反応サイクルが 1 周し、2 つの水分子から酸素分子 1 個が放出されます。この S 状態サイクルと呼ばれる過程では、通常は最も安定な S₁ 状態から始まって S₂、S₃ と進み、S₄ 状態を経て最も還元された状態である S₀ となった後、S₁ に戻ります。沈先生のグループでは大量の光化学系 II の微結晶を用いた XFEL 測定により、S₁ から S₂ を経て S₃ 遷移までの反応の様子を捉えることに成功されています[3]。

さて、こうした光化学系 II 複合体の結晶中において、水分解反応は通常の研究で使われる溶液試料と同じように進むのか？ということが新たな疑問として出てきました。そもそも結晶化する前の状態、つまり光化学系 II 複合体を懸濁した溶液試料でさえ、光を照射すると高い効率で反応は進むものの、量子効率にしてよくても 90%程度です。はたして、光化学系 II 結晶中の中間状態は溶液試料と同じなのか、また反応効率はどれくらいなのか、このような問題を明らかにすべく、私たちは最近フーリエ変換赤外(FTIR)分光法を光化学系 II の微結晶に適用して、反応を解析しました。

FTIR 法では、タンパク質内の分子や周辺(結合部位)の構造・相互作用などを X 線構造解析の分解能を超える精度で解析が可能です。光化学系 II における水分解反応の解析にも強力な手法であり、各遷移におけるマンガンクラスター周辺(配位子)の構造変化の検出や反応効率の算出が可能です[4]。

光化学系 II 微結晶を用いた FTIR 分光測定を行ったところ、得られた FTIR スペクトルの形状は溶液試料の場合とほぼ同じであり、結晶中でも溶液試料と同様に水分解反応が進行することが示されました[5]。反応効率については、S₂→S₃、S₃→(S₄)→S₀ 遷移では 25%程度低下するものの、最初の S₁→S₂ 遷移や S₀→S₁ 遷移では 80%以上の効率で反応が進行することが分かりました。効率が大きく低下した 2 つの遷移では水分子の移動が伴うことが知られていることから、水分子を排除しながら作製する結晶試料では、水分子の移動が抑制されるために反応効率が低下したものと考えられます。最近では顕微 FTIR 分光法を用いた微結晶 1 個でも測定できるようになり、同様の結果を得ています[6]。この結果から、今後の XFEL を用いた光化学系 II 結晶の研究において、結晶中でも効率よく反応を進められる条件を探ることが一つの課題といえます。

X 線結晶構造解析で得られた 3 次元構造を眺めると、自分が小さくなってタンパク質複合体の内部に入り込んだ気分には(私は)なれます。天然の水分解反応のメカニズムは、光合成研究者だけでなく、人工光合成の研究者にとっても非常に興味深いことと思いますが、私は小さくなれるなら、水から引き抜かれた電子がキノン分子に移動し、次の系へ伝達される様子を見たいと空想します。これまでいわれているように、キノン分子はキノールになって光化学系 II からするすつと出ていくのか…。最近では、クライオ電子顕微鏡の目覚ましい技術進歩により、試料を結晶化しなくても、タンパク質の構造が高分解能でみられるようになってきています。小さくならなくても、どんどんみたいものが簡単に(!?) みられる時代が来ているようですが、そんな時代の中、構造研究だけでは分からない課題、電子伝達におけるエナジェティクスの研究などにも取り組んでいます。

[1] Zouni et al., *Nature* 409, 739 (2001); Kamiya & Shen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 98 (2003) など。

[2] Umena et al., *Nature* 473, 55 (2011)。

[3] Suga et al., *Nature* 543, 131 (2017); *Science* 366, 344 (2019)。

[4] Noguchi, *Coord. Chem. Rev.* 252, 336 (2008)。

[5] Kato et al., *J. Phys. Chem. Lett.* 9, 2121 (2018)。

[6] Kato et al., *J. Phys. Chem. B* 124, 121 (2020)。