



## ● クライオ電子顕微鏡による光合成超分子複合体の構造解析

公募 A 班 宮崎 直幸

天然および人工光合成による光化学反応を理解するには、その反応場を形成している原子の配置や状態を知ることは非常に重要である。そのため、光合成に関わる分子の立体構造がこれまで多数解明されてきた。特に、天然の光合成反応で中心的な役割を担っている光化学系 I (PSI) や光化学系 II (PSII) などのタンパク質は、多数のサブユニットからなる超分子複合体であり、これまでは、X線結晶構造解析法により構造が決定されてきた。そして、近年では、X線自由電子レーザー (XFEL) を用いた反応中間体の構造解析も盛んに行われている。しかし、これらの X線を用いた“結晶”構造解析では、結晶が用いることに起因する制限がある。一方で、私が専門とするクライオ電子顕微鏡 (クライオ電顕) 単粒子解析法は、近年急速に発展し、その分解能は原子 1 つ 1 つが分離される 1.2 Å にまで到達した[1, 2]。クライオ電顕単粒子解析法は、タンパク質粒子を含む薄い水の薄膜を瞬時に凍結し、その薄膜にランダムな配向で包埋されている多数のタンパク質の透過像を撮影し、その多数の 2 次元投影像から 3 次元構造を再構成する手法である。この方法では、溶液場での構造が得られるうえ、溶液組成も自由に変えることができるので、生理的条件下により近い構造を決定できるという利点がある。それに加え、試料に構造多型がある場合でも 3 次元クラス分類により解析ができるという利点もある。例えば、分子会合状態に多型があったり、いくつかのコンフォメーション状態をとるものであっても、それらの分子像を適切にクラス分類することで、高分解能での解析が達成できる。そのため、天然光合成の分野では、PSI や PSII とそのアンテナタンパク質複合体の解析において、実用性が示された。アンテナタンパク質と光化学系タンパク質との相互作用は一般に弱く、複合体は不安定であることが多い。その結果、構造的に均一な試料を得ることが難しいため、構造多型の解析が可能なクライオ電顕単粒子解析が威力を発揮した[3, 4]。

私も本領域代表の沈先生との共同研究において、緑藻や珪藻の光化学系 I および光化学系 II とそのアンテナタンパク質との複合体の構造をクライオ電顕単粒子解析により決定し、その構造から、アンテナタンパク質による集光の仕組みの一端を解明してきた[5-7]。特に、緑藻の PSI とそのアンテナタンパク質 (LHCI) との複合体 (PSI-LHCI) の解析では[5]、PSI の PsaF サブユニットのルーメン側にある塩基性残基のクラスター付近に、電子伝達系タンパク質であるプラストシアニンと考えられる密度を偶然捉えること

に成功した。この PSI は、光エネルギーを利用して、反応中心である P700 において遊離電子を発生させ、その電子を電子伝達系のフェレドキシンへと伝達する。一方で、電荷分離し参加された P700<sup>+</sup>は、プラストシアニンから電子を受け取り、元の状態に戻る。これらの一連の電子伝達経路に関しては良く分かっているのだが、PSI と電子伝達系との間で実際にどのように電子の受け渡しが行われているのかに関しては、未だ不明のままである。そこで、今回採択して頂いた本研究では、PSI が電子伝達の際に形成する過渡的な複合体の構造をクライオ電顕単粒子解析により解明したいと考えている。クライオ電顕では、前述の通り溶液場において構造解析ができるという利点がある。そのため、PSI と電子伝達系のタンパク質を混ぜた状態で光を照射すると、タンパク質は溶液中で自由に移動できるので複合体形成が誘導されるはずである。そして、その複合体を瞬時に凍結することで物理的に固定し、そのイメージをクラス分類し解析することでそのような過渡的に形成される反応中間複合体の解析が可能になると考えている。ただし、そのためには、光照射と同期して試料を凍結することができる装置の開発や、反応の進行をモニターするための分光学的手法も用いる必要がある。本領域でそれらを得意とする先生方にアドバイスを頂きながら、共同研究なども積極的に行って効率的に研究を進めていきたい。

また、天然の光合成タンパク質だけでなく、人工光合成分子の場合でも、クライオ電顕単粒子解析による構造解析が適用できることがあると考えている。光合成とは無関係ではあるが、タンパク質で作製した開閉可能な人工タンパク質ケージの研究では、既に人工物での構造解析の実績があり[8, 9]、人工光合成に携わっている先生方との共同研究を通じて、人工合成の研究にも貢献したいと考えている。

### 【参考文献】

- [1] Yip et al. *bioRxiv*, 2020.05.21.106740 (2020).
- [2] Nakane et al. *bioRxiv*, 2020.05.22.110189 (2020).
- [3] Wei et al. *Nature*, 534, 69-74 (2016).
- [4] Su et al. *Science*, 357, 815-820 (2017).
- [5] Suga et al. *Nat. Plants*, 5, 626-636 (2019).
- [6] Nagao et al., *Nat. Plants*, 5, 890-901 (2019).
- [7] Nagao et al., *Nat. Commun.*, 11, 2481 (2020).
- [8] Malay et al., *Nature*, 569, 438-442 (2019).
- [9] Iwasaki and Miyazaki, *生物物理*, 60, 153-156 (2020)

新学術領域「革新的光物質変換」ニュースレター  
 第 3 巻・第 9 号 (通算第 33 号) 令和 2 年 9 月 1 日発行  
 発行責任者: 沈 建仁 (岡山大学 異分野基礎科学研究所)  
 編集責任者: 八木政行 (新潟大学 自然科学系)  
<http://photoenergy-conv.net/>