

光合成蛋白質 Photosystem II における水分解反応を 蛋白質環境から理解する



研究ノート

石北 央*

Exploring the water-splitting/ O_2 -evolving reaction in the
Photosystem II protein environment

Key Words : PSII, Mn_4CaO_5 cluster, electron transfer, proton transfer,
quantum chemistry

1. 光駆動酸素発生蛋白質 Photosystem II (PSII) とは

太陽光は地球に無尽蔵に降り注ぐ唯一のエネルギー源であり、人類の存亡をかけたエネルギー問題解決の立役者として期待されています。しかし、太陽光からエネルギーを取り出すための技術は、まだ発展途上と言わざるを得ないのが現状です。その一方で、高等植物や藻類などの生物は、大昔からいとも簡単にそれを行っていました。それが光合成です。光合成は、光のエネルギーを使って水分子を酸素分

子と水素イオン（プロトン、 H^+ ）に分解する反応です。この反応を手助けする触媒として働くのが Mn_4CaO_5 クラスタで、葉緑体にある膜蛋白質「PSII」の内部に位置しています（図1）。しかし、その触媒のしくみは謎に包まれています。2011年になってはじめてこの Mn_4CaO_5 クラスタの分子構造が解明されました(1)。これにより、光合成の水分解反応を分子構造に基づいて研究することが一気に勢いづきました。

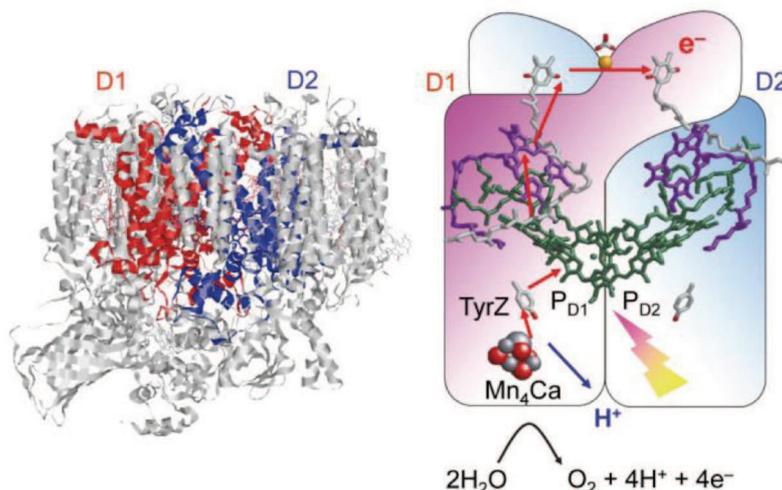


図1 光合成で水分解・酸素発生反応を行う PSII 蛋白質全体像（左）。蛋白質内に埋め込まれた触媒部位 Mn_4CaO_5 クラスタと周辺の電子移動経路、プロトン移動経路が反応に重要（右）。



* Hiroshi ISHIKITA

1974年8月生

Free University of Berlin, Institute of
Chemistry and BiochemistryにてPh.D.
(Dr. rer. nat.) 授与 (2005年)

現在、大阪大学大学院理学研究科 生物
科学専攻 教授 Ph.D. (Dr. rer. nat.)
蛋白質の生物物理・理論化学

TEL : 06-6850-5422

FAX : 06-6850-5423

E-mail : hiro@bio.sci.osaka-u.ac.jp

2. 電子移動による酸化還元反応

水を分解して酸素分子を発生させるためには、反応式「 $2H_2O$ (水) $\rightarrow O_2$ (酸素) + $4H^+$ (プロトン) + $4e^-$ (電子)」からもわかるように、水分子から電子を引き抜く必要があります。 Mn_4CaO_5 クラスタは単独では水分解を行うことができず、必要な酸化力を外から得る必要があります。その酸化力を与えるのが、 PD_1 、 PD_2 のクロロフィル分子ペア (P680)

です (図1)。溶液中のクロロフィルが700 mV程度の酸化還元電位を持つのに対し、P680は1100～1200 mVと異常に高い酸化還元電位を持ち、水(800 mV)から電子を引きぬくことが可能です(2, 3)。

3. 蛋白質内のプロトン移動経路の解明

Mn₄CaO₅クラスター周辺の分子構造をみると、水分子が多数存在しています。これらのうち、水分解反応に使われる水分子(基質)はどれかを知ることが、反応機構を分子レベルで理解するための第一歩です。なぜなら、基質水分子が特定されれば、複数の原子から成るMn₄CaO₅クラスターのどの部位で触媒反応が起こるのかわかり、反応機構の特定につながるからです。しかし、分子構造を見ただけではどれが基質水分子かは分かりません。水分解では、酸素とともにプロトンが副産物として生成されます。このプロトンは蛋白質内部のMn₄CaO₅クラスター付近で生成された後、蛋白質外部へ移動し、排出されます。もし、そのプロトン移動の経路を特定することができれば、その道筋を逆にたどることにより、必ず基質水分子に行き着くことができます。したがって、水分解機構を明らかにするためにすべきことは、プロトンが蛋白質内のどの部位を通して排出されるのか、その経路を特定することです。

PSIIの中心部はD1・D2サブユニットと呼ばれる二つの部品からなります(図1, 2)。D1とD2はとてもよく似た形をしているのですが、唯一の違いがあります。D1はMn₄CaO₅クラスターを持ちますが、

D2は持たないという点です。これは、蛋白質の分子進化の過程において、もともとD2にも含まれていたはずのMn₄CaO₅クラスターが消失してしまった結果だと考えられます(図2)(4)。

水分解後のプロトン排出はD1におけるMn₄CaO₅クラスターの近傍で起こります。しかし、D1のこの領域にはプロトン移動経路の候補となる水分子が多く存在するため、一見しただけでは経路を特定することができません。一方、D2における対応する領域では水分子が少ないため、プロトン移動経路の解析を行うことが容易です。私たちは、D2のこの領域に着目し、プロトン移動のエネルギーを量子化学計算によって解析しました。その結果、唯一のプロトン移動経路(図3b)が存在することを見出しました。この経路はD2に存在する「チロシンD(TyrD)」と呼ばれるアミノ酸残基からプロトンが放出されるときに使用されるものです。経路上の水分子とアミノ酸残基の上を、プロトンはまるでミノ倒しのように次々に移動していくことがわかりました(図3c)(5)。

蛋白質の進化の過程をさかのぼると、D2はもともと、D1のようにMn₄CaO₅クラスターを持ち、水分解反応を行っていたといわれています。私たちが発見したプロトン移動経路はその痕跡かもしれません。重要な要素は進化の過程を経ても失われずに残るものです。もしそうならば、これと同様なプロトン移動経路がD1にも存在しているはずですが、そこで、D1において対応する場所を調べたところ、

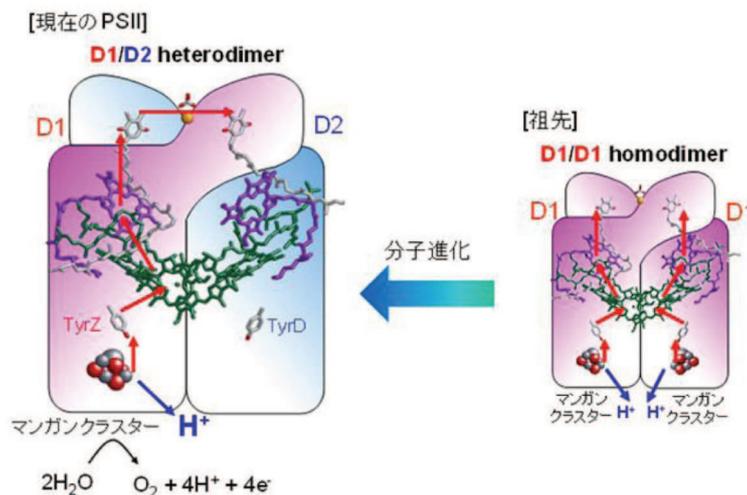


図2 PSIIの中心部の模式図とその分子進化。TyrD: チロシンD

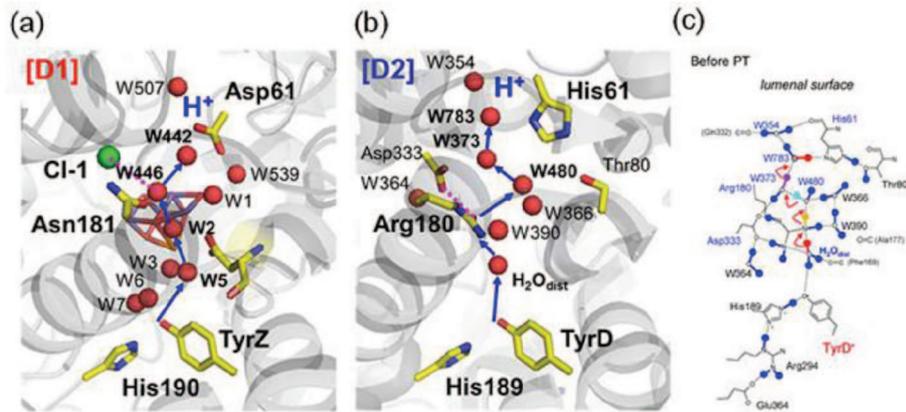


図3 (a) D1および (b) D2におけるプロトン移動経路と、(c) D2におけるドミノ倒し様プロトン移動の模式図。Cl-1: 塩化物イオン、TyrD: チロシンD。

水分子とアミノ酸残基からなる経路を発見することができました (図3a)。しかも、興味深いことに、この経路は水分解に必須であるといわれている塩化物イオンを含んでいました。これらのことから、D1におけるこの経路が、実際に水分解反応で使われているプロトン移動経路であると考えられます (5)。

4. 人工光合成と Mn_4CaO_5 クラスター

太陽光を利用した再生可能エネルギー生産を行う「人工光合成」分子の実現のため、実際に PSII の Mn_4CaO_5 クラスターをヒントに多くの Mn 錯体分子が合成されました。興味深いことに、全ての Mn-O 結合距離がそろった対称性構造をもつ錯体分子では水分解活性がほとんどありませんが、いくつかの伸びた Mn-O 結合を持つ「歪んだ」構造の錯体分子では水分解活性があることが知られています (図4) (6)。つまり、伸びた Mn-O 結合に起因する「歪み」の存在は水分解活性の有無を決める重要な要因と言えます。PSII の水分解反応では Ca を

取り除くと水分解反応は途中で止まってしまうため、Ca の存在は重要であることがわかっています。そのこともあり、Ca は「歪み」の原因とも考えられていました。

量子化学計算を用いると、原子間の結合距離を正しく求めることができます。蛋白質のような巨大分子をも取り扱える量子化学計算手法「QM/MM法」を用いて、私たちは、PSII 蛋白質中で Ca を外した錯体の構造を計算しましたが、PSII 内の伸びた Mn-O 結合はほとんど変化しませんでした。一方、「歪んだ椅子」の「背もたれ」部位に1個だけ位置する



図4 PSII 蛋白質中の Mn_4CaO_5 クラスターの構造 (左) はしばしば「歪んだ椅子」構造 (右) にたとえられます。

図5 金属イオン除去による Mn_4CaO_5 構造の変化。Ca を除去しても Mn1 と隣接する O との結合距離は伸びたままですが (上)、「歪んだ椅子」の「背もたれ」部位に存在する Mn4 を除去すると一般的な結合の長さに戻り、構造の歪みは解消します (下)。

Mn (Mn4) を除去すると、伸びていた Mn-O 結合は、通常の結合距離へ戻りました (図5)。このことから、PSII の Mn_4CaO_5 クラスタに見られる伸びた Mn-O 結合、すなわち歪みの原因は、「背もたれ」部位に1個だけ位置する Mn であることが初めて実証されました (7)。

5. おわりに

その構造の複雑さから、PSII の反応制御機構は未解明な点が多く、工学的応用の障壁となっています。PSII という非常に集約された一分子内反応場に魅せられ、私たちはその複雑な構造の先にあるものを蛋白質の生物物理による考え方と理論化学による捉え方により追求しています。

参考文献

1. Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.-R. & Kamiya, N. (2011) *Nature* **473**, 55-60.
2. Ishikita, H., Saenger, W., Biesiadka, J., Loll, B. & Knapp, E.-W. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 9855-9860.
3. Saito, K., Ishida, T., Sugiura, M., Kawakami, K., Umena, Y., Kamiya, N., Shen, J.-R. & Ishikita, H. (2011) *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 14379-14388.
4. Rutherford, A. W. & Faller, P. (2003) *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **358**, 245-253.
5. Saito, K., Rutherford, A. W. & Ishikita, H. (2013) *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 7690-5.
6. Robinson, D. M. et al., G. C. (2013) *J Am Chem Soc* **135**, 3494-501.
7. Saito, K. & Ishikita, H. (2014) *Biochim Biophys Acta* **1837**, 159-166.

