

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	植物・藻類がもつ酸素発生中心 Mn ₄ CaO ₅ クラスターの解離様式の理解				
研究テーマ (欧文) AZ	Understanding of the dissociate mechanism of the oxygen-evolving center 'Mn ₄ CaO ₅ -cluster' from higher plants and cyanobacteria				
研究氏 代表者	カタカナ CC	姓)カワカミ	名)ケイスケ	研究期間 B	2016 ~ 2017 年
	漢字 CB	川上	恵典	報告年度 YR	2016 年
	ローマ字 CZ	Kawakami	Keisuke	研究機関名	大阪市立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	大阪市立大学複合先端研究機構・特任准教授				

概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)

植物や藻類のチラコイド膜内に存在する光化学系 II 複合体 (PSII) は、分子状酸素を発生させる酸素発生触媒「Mn₄CaO₅ クラスター」をもつ。本研究では、還元試薬の 1 つであるヒドロキシルアミン (NH₂OH) によって Mn₄CaO₅ クラスターを還元・解離させ、この解離反応を高分解能時間分割 X 線結晶構造解析によって明らかにすることをを行った。この研究によって、Mn₄CaO₅ クラスターの構成原子である Mn, Ca と、Mn₄CaO₅ クラスターの構造安定化に寄与しているアミノ酸配位子との結合親和性が明らかとなり、還元反応によって引き起こされる PSII 内部の構造変化、特に水分解時に機能するプロトン放出・水流入経路の構造変化を三次元構造として取得でき、PSII 内で引き起こされる還元反応について詳細に理解できるようになった。

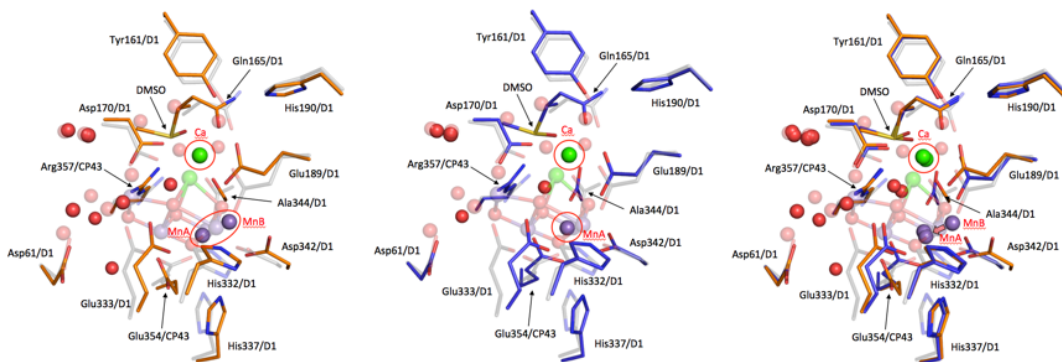


図 1. A: 5 mM NH₂OH-PSII の構造。B: 20 mM NH₂OH-PSII の構造。C: Native-PSII 構造, 5 mM NH₂OH-PSII 構造, 20 mM NH₂OH-PSII 構造の重ね合わせを行った図。

図 1 は、本研究を進める上で行った高濃度 NH₂OH (5 mM, 20 mM) 処理の PSII 構造であり、それぞれ約 2.0 Å 分解能の X 線回折強度データを得ている。図中の半透明の構造は、Mn₄CaO₅ クラスターが解離していない Native-PSII 構造を示している。5 mM NH₂OH-PSII 構造において、Mn₄CaO₅ クラスターが完全に解離して 1 個の Mn が 2 つに乱れた状態に存在し (MnA, MnB)、その内の 1 個は His332/D1 と水素結合距離の位置に存在していた。このことから、残った 1 個の Mn は Native-PSII 構造において His332/D1 と配位結合していた Mn1 に対応することが示唆され、Mn2 ~ Mn4 の 3 個の Mn はすでに遊離していることを構造学的に特定でき、さらに Mn₄CaO₅ クラスターの配位子の大きな構造変化を観測することに初めて成功した。一方 Ca は、Native-PSII 構造の配置から大きく移動し、Native-PSII 構造では相互作用していなかった Gln165/D1 と Glu189/D1 と結合し、PSII 結晶の凍結に用いる溶液に含まれるジメチルスルホキシド (DMSO) が結合していた。一方 20 mM NH₂OH-PSII 構造において、5 mM NH₂OH-PSII 構造では 2 つに乱れていた 1 個の Mn (MnA, MnB) が MnA のみとなってその位置で構造安定化していることを明らかにし、NH₂OH の処理濃度を変えることで Mn₄CaO₅ クラスターの解離変化を追跡できることを確認した (図 1-C)。現在、これらのデータをまとめ、論文投稿準備を進めている。

キーワード FA	光合成	酸素発生	酸素発生触媒	還元
----------	-----	------	--------	----

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA					
研究機関番号 AC					シート番号					

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}				雑誌名 ^{GC}				
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}				雑誌名 ^{GC}				
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}				雑誌名 ^{GC}				
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}				発行年 ^{HD}				総ページ ^{HE}
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}				発行年 ^{HD}				総ページ ^{HE}

欧文概要 EZ

Oxygen-evolving photosystem II (PSII) existed in the thylakoid membranes from higher plants and cyanobacteria includes the Mn_4CaO_5 -cluster, producing oxygen molecule by water-splitting reaction. In this study, we performed the high-resolution time-resolved X-ray crystal structure analysis of the Mn_4CaO_5 -cluster depletion structure using hydroxylamine (NH_2OH), one of the reducing reagents, which can dissociate the Mn_4CaO_5 -cluster. In conclusions,

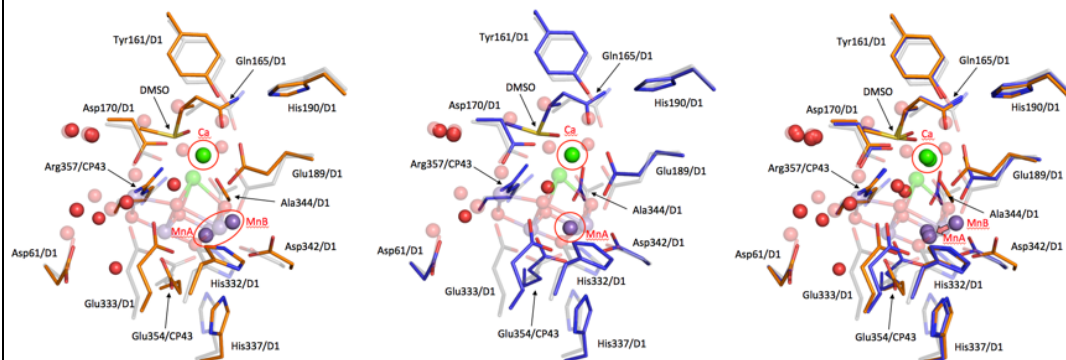


Figure 1. A: Structure of NH_2OH -PSII. B: Structure of 20 mM NH_2OH -PSII. C: Superposition of the structures (native-PSII, 5 mM NH_2OH -PSII, and 20 mM NH_2OH -PSII)

Figure 1 shows the structures of high-concentrated NH_2OH -PSII at around 2.0 Å resolution, respectively. Translucent structure in figure 1 shows native-PSII which the Mn_4CaO_5 -cluster dose not dissociate. We demonstrated the structure of PSII which the Mn_4CaO_5 -cluster dissociated, and confirmed that we can analyze a dissociation change of the Mn_4CaO_5 -cluster by the treatment of various NH_2OH concentrations.