

酸素発生を行う光化学系 II 蛋白質の光誘起電荷分離反応において、クロロフィル二量体分子が特有の正電荷状態をとる理由をアミノ酸残基レベルで解明

植物の光合成反応では、光エネルギーを利用して水分子を分解することにより酸素分子を生み出します。この反応を行うのが Photosystem II (PSII) と呼ばれる蛋白質の活性部位、 Mn_4CaO_5 クラスタです。PSII とその Mn_4CaO_5 クラスタの詳細な構造は、2011 年に日本の研究グループにより世界で初めて解明されました。

水を分解して酸素分子を発生させるためには、反応式 $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$ (電子) からわかるように、水分子から電子を引き抜く (=水分子を酸化させる) 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、水分解に必要な酸化力を生み出すエネルギーを外から得る必要があります。その酸化力を与えるのが、チラコイド膜に存在するクロロフィル分子ペア P680 です。P680 は、D1 サブユニット、D2 サブユニットと呼ばれる二つの蛋白質サブユニット環境に埋め込まれた P_{D1} 、 P_{D2} という二つのクロロフィル分子から成り立ちます。P680 は光励起によって、蛋白質内にうめこまれた電子移動経路に (負電荷である) 電子を受け渡すと、自分自身は正電荷を帯びた $[\text{P680}]^+$ となります。 $[\text{P680}]^+$ 状態では、正電荷が P_{D1} と P_{D2} の二つのクロロフィル分子上に $\text{P}_{\text{D1}}^+:\text{P}_{\text{D2}}^+ = 80:20$ の比で分布します。この $[\text{P680}]^+$ 状態こそが、最終的に水分子から電子を引き抜く活性種です。

負電荷である電子は、P680 近くに存在するフェオフィチンとキノンからなる電子移動経路を流れて分離されます。PSII では、外見上は電子移動経路は 2 つ存在し、 P_{D1} 側と P_{D2} 側にそれぞれ対称的に配置されています (図 1)。しかし、実際に電子が流れるのは常に D1 側の経路だけで、D2 側には電子は流れない (不活性) ことが知られています。

PSII と共に植物の光合成に必要な蛋白質である Photosystem I (PSI) にも、反応中心には P_{A} 、 P_{B} の二つのクロロフィル分子からなる P700 と呼ばれるクロロフィル分子ペアが存在し、電子移動経路も P_{A} 側と P_{B} 側に対称的に配置されています (図 1)。しかし、PSII と大きく異なるのは、PSI では両方の電子移動経路共に電子が流れます。なお、 $[\text{P700}]^+$ 状態では $\text{P}_{\text{A}}^+:\text{P}_{\text{B}}^+ = 30:70 \sim 10:90$ の比で正電荷が分布することが知られています。

ところが、PSI、PSII におけるクロロフィルペア上の正電荷分布比は知られているものの、なぜそれぞれの蛋白質環境がこのような異なった比を作り出すのかは明らかにされていませんでした。また、その理由を明らかにすることは、もしかしたら PSII における「電子移動経路は対称的に配置されているにもかかわらず、電子移動活性は非対称的に D1 側しかない」という謎を解き明かすことにつながるかも知れません。しかし、PSII 蛋白質の構造は大変複雑であり、実験的手法で解析を行うのも高度な手法が必要で、時に困難を伴います。これに対し、信頼できる蛋白質立体構造情報が既知であれば、理論化学的手法を用いることにより、高速かつ精度良く実験測定値を計算することが可能です。クロロフィルの電子状態をきちんと計算したのであれば、量子化学計算が威力を発揮します。しかし、

通常の量子化学計算は、原子数が大きな分子では極端に計算時間がかかります。

本研究では、蛋白質全原子の相互作用を考慮しつつ、精度良く計算したい部位に対してはさらに量子化学計算を行うことで、計算精度・速度ともに優れている Quantum Mechanics/ Molecular Mechanics (QM/MM)法を適応することにより、PSII 蛋白質環境が $P_{D1^+}:P_{D2^+}=80:20$ を作り出している理由を明らかにしました。P680 クロロフィルが存在する D1、D2 蛋白質サブユニットは、アミノ酸配列が比較的よく似ていますが、いくつかの箇所でお互い全く異なる性質を持つアミノ酸を持っています。本研究により P_{D1} 、 P_{D2} クロロフィル (モノマー) 分子の酸化還元電位は 100 mV ほど差があることがわかりましたが、その電位差を生じさせている大きな原因はこのような、アミノ酸の相同性が D1、D2 蛋白質サブユニット間で大きく崩れる箇所でした。

大変興味深いことに、これらの P_{D1} 、 P_{D2} クロロフィル電位差に大きな影響を与える「1、D2 蛋白質サブユニット間でアミノ酸の相同性が崩れる部位」は、既存の研究で、PSII の水分解活性に重要な役割を果たすと指摘されているものばかりでした。 Mn_4CaO_5 クラスタは D1 サブユニット側に存在するため、特に Mn_4CaO_5 クラスタ結合部位周辺の D1 サブユニットのアミノ酸は、対応する D2 サブユニット側と大きく性質が異なる箇所が多々存在します。PSII の水分解活性に重要な役割を果たすと指摘されているアミノ酸は、こういった箇所の D1 サブユニット側に多く見受けられます。

このような性質が異なる箇所は、本来水分解サイト Mn_4CaO_5 クラスタの機能発現のために生じたのかも知れません。しかし、そういった箇所が、同時に、P680 を構成する 2 つのクロロフィルのうち Mn_4CaO_5 クラスタに近い側の P_{D1} 側に大部分の電荷を配置させ、その結果として水分解反応にとっても都合が良くなっている事実は、PSII において 1 つ 1 つのアミノ酸残基が無駄なく全体の反応効率を高めるように配置されている様子を物語っています。

このように、水分解反応に深く関わるアミノ酸が存在する側の D1 と、そのようなアミノ酸が少ない D2 の性質の差異が、クロロフィル P_{D1} と P_{D2} の正電荷を蓄える能力=酸化力にも差をつけていました。つまり、「 $P_{D1^+}:P_{D2^+}=80:20$ となるのは、PSII が水分解活性を持つ限り必然的な帰結である」ことが、本研究により、初めてアミノ酸残基レベルで詳細に明らかとなりました。

本研究成果は以下の科学誌に発表いたしました (下線はさきがけ領域内研究者・アドバイザー)。

Saito K, Ishida T, Sugiura M, Kawakami K, Umena Y, Kamiya N, Shen JR, Ishikita H. “Distribution of the cationic state over the chlorophyll pair of photosystem II reaction center”. *J. Am. Chem. Soc.* 133(2011) 14379-14388

参考文献

Umena Y, Kawakami K, Shen JR, Kamiya N. "Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å". *Nature*. 473 (2011) 55-60.

Saito K, Ishikita H. "Cationic state distribution over the P700 chlorophyll pair in Photosystem I". *Biophys. J.* 101 (2011) 2018-2025

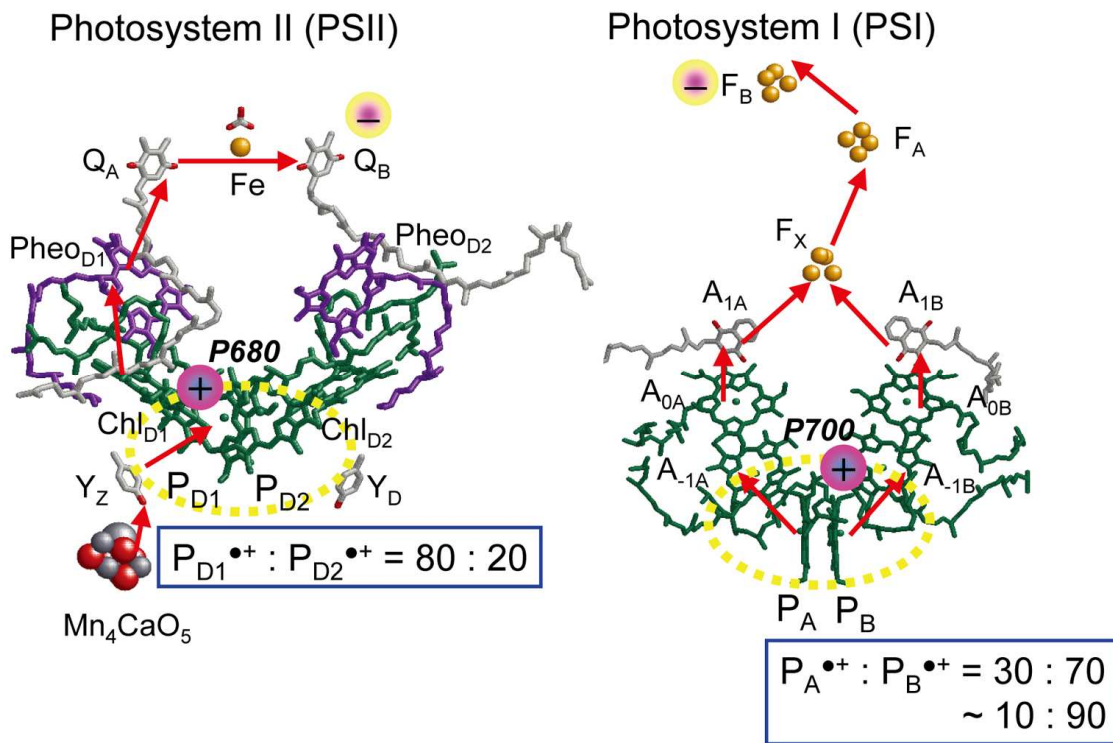


図1 PSI (右)、PSII (左) の光合成反応中心における酸化還元活性コファクターの配置および電子移動経路 (赤矢印)。