

第7回 晝馬輝夫 光科学賞 受賞講演

光合成に関わる
水分解・酸素発生触媒の
構造と機能の研究

.....

国立大学法人岡山大学異分野基礎科学研究所 教授
博士(理学)

菅 倫寛
すが みちひろ

概要

光化学系II (PSII) は、 Mn_4CaO_5 クラスターでKokサイクルを介して太陽光エネルギーを取り込み、 S_3 状態で酸素 O_6 を余分に取り込んで二酸素を形成することで、水の酸化を触媒する。講演では、私がこれまで行ってきたX線自由電子レーザーを用いたPSIIの構造機能研究、時間分解連続結晶構造解析による水の酸化機構の最近の進展について解説する。

植物や藻類は太陽からさんさんと降り注ぐ光のエネルギーを利用して、水分子と大気中の二酸化炭素から炭水化物を合成して利用し、その副産物として酸素分子を放出する。この過程は光合成と呼ばれ、多くのタンパク質が協調して織りなす酵素反応によるものである。光合成の発端は光化学系II (Photosystem II, PSII)による水分解・酸素発生反応である。PSIIはクロロフィルなどの集光色素を用いて光のエネルギーを吸収し、光のエネルギーを利用して水分子からプロトンと電子を取り出し、酸素分子を大気に放出する。この水分解・酸素発生の反応機構の解明は、生物がいかにして光エネルギーを化学エネルギーに変換するのかという根本的な問いに答えるものである。

この水分解・酸素発生の反応機構は以下の順序で起きる。初めにPSIIの特殊なクロロフィルP680が光エネルギーを吸収してピコ秒からナノ秒の時間内に電荷分離反応を起こし、これにより放出された電子はキノン Q_A まで移動する。続いて、P680に生じた正孔を中性に戻すためにラジカル活性のある特殊なチロシン残基Y160 (Y_z)がナノ秒からマイクロ秒の時間内にP680に電子を供与する。続いて Y_z は中

性に戻るため、マンガンクラスターからマイクロ秒からミリ秒の時間内に電子を引き抜く(図1a)。水を分解する触媒の実体であるマンガンクラスターは電荷分離反応が起こる度に酸化数が上昇し(S_i , $i=0\sim 4$)、 S_4 状態に到達すると水分子を酸素分子へと酸化してマンガンクラスターの酸化数が S_0 状態に戻る(図1b)。PSIIは天然に存在する、可視光によって水から電子とプロトンを取り出すことのできる唯一の酵素である。このため、反応機構の解明は光エネルギーと水から電子と化学エネルギーを取り出して有用な化学物質に変換する、人工光合成触媒の糸口として注目されている。

光合成の研究の歴史は長く、光化学系IIに限っても100年以上に及ぶが、その中で光化学系IIの水分解触媒の実体は最大の謎とされていた。1930年代に水分解反応にマンガンが必須であることが発見され、1970年代には4電子酸化の周期(S_i 状態サイクル)の反応であることが示された。また1980年代には光合成の反応中心の結晶構造が解析され、この成果に対してノーベル化学賞が授与されている。2000年代には光化学系IIの結晶構造が決定され、2010年代には結晶構造の分解能が大幅に改善され、水を分解する実体であるマンガンクラスター触媒の構造が明らかになった。しかし、結晶構造は、強力な放射線によって損傷したものであることが問題になっていた。また、水分解反応の S_i 状態サイクルのうち、開始状態の S_1 状態のみしか解析されていなかったことが反応機構の理解を妨げていた。しかし、ここ10年のX線自由電子レーザーを用いたPSIIの構造生物学的研究によって急速に理解が深まったと言える。

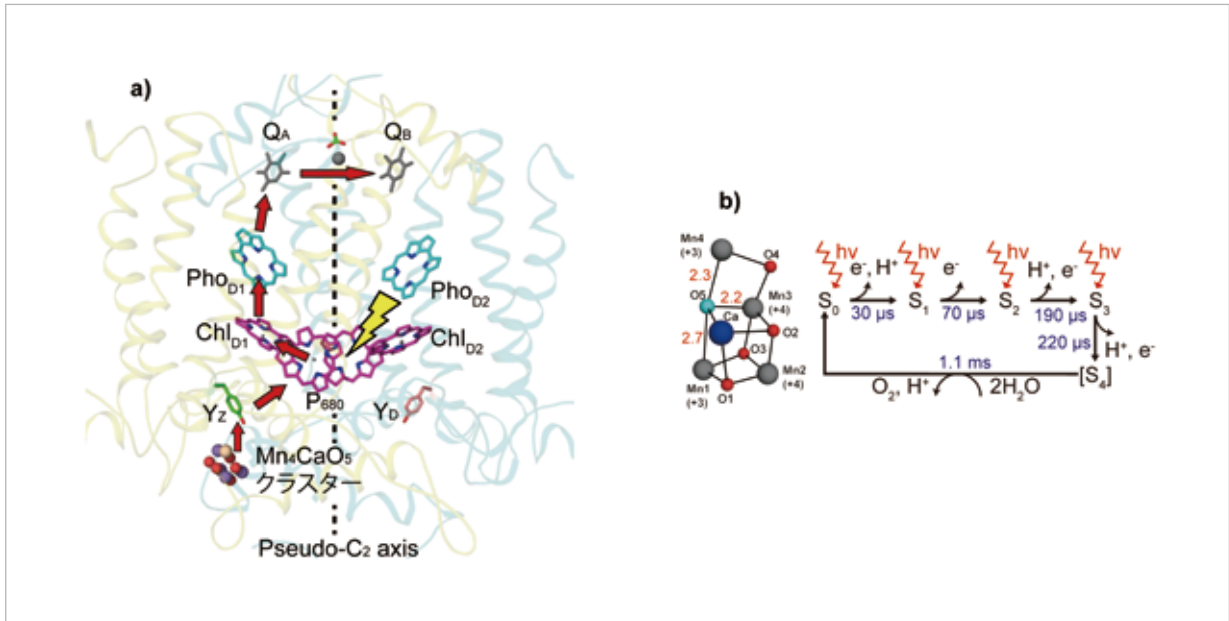


図1: PSIIの全体構造と水分解・酸素発生反応

a) 光エネルギー吸収と電荷分離反応後にはたらく電子伝達鎖

b) ゆがんだイス型のマンガンクラスターとS_i-状態遷移サイクル. マンガンクラスターはO5と周囲のマンガンイオンとの距離(Å)を赤字で示している。

X線自由電子レーザーは、超高輝度X線パルスをフェムト秒の時間スケールで発振する技術である。このため、強いX線照射により試料は破壊されてしまうが、損傷が起こる前の回折像を得て、放射線損傷を受けていない立体構造を決定できる。X線自由電子レーザーの短い照射時間を生かして、ポンプ・プローブ法を行うことでタンパク質が駆動している瞬間を捉えることも可能である。われわれはX線自由電子レーザーを用いて、PSIIのマンガンクラスター触媒の立体構造を、放射線損傷を受けていない状態で世界最高レベルの1.95 Å分解能で解析した(論文1)。X線自由電子レーザーを用いて得られた酸素発生中心の全体構造は放射光を用いて決定した構造と同様にゆがんだ椅子型をしているが、MnとMnの距離およびMnとOの結合距離において顕著な違いが見られた。X線自由電子レーザーの構造では全てのMnとMnの距離が放射光を用いた立体構造と比べて0.1–0.2 Åずつ短くなり、放射線を用いた

立体構造ではMnイオンが放射線により還元を受けただために互いの距離が長くなっていることが確認された。また、O5と呼ばれる酸素原子とMnとの結合距離が他の酸素とMnの結合距離に比べて著しく長いという特徴が見つかり、O5が反応によって酸素分子へと変化する反応機構の可能性に改めて注目が高まった。

続いてわれわれは光の透過しやすい小さなPSIIの結晶に可視光レーザーを照射して反応を開始させたのちにX線自由電子レーザーを照射して、反応中間体状態の立体構造を決定した。その結果、マンガンクラスターにある特殊な酸素原子O5の近傍に、S₃状態では酸素原子(水分子)O6が取り込まれることを発見した(論文2)。これにより、O5とO6が基質となって酸素分子を形成すること、そしてO5とO6がオキシ/オキシルの化学構造であることを明らかにした(論文3)。またPSIIの外部からマンガンク

ラスターへ続く、基質である水分子の取り込みに機能する経路を特定した。

上記のPSIIの構造研究は反応途中の準安定な中間体状態の構造を明らかにしたが、いずれも静止状態の構造である。そのため周囲のタンパク質環境や触媒に構造変化が起きる順序、その作動原理は謎のままであった。そこでわれわれは5年の年月をかけて、上記のポンプ・プローブ法による実験を繰り返して、上記のポンプ・プローブ法による実験を繰り返して、分析結果を積み重ねた。そして、これらの結果を統合的に解析し、レーザー1、2閃光後の酸素発生反応の $S_1 \rightarrow S_2$ 状態遷移および $S_2 \rightarrow S_3$ 状態遷移における、ナノ秒からミリ秒に起こるほぼ全ての構造変化を可視化することに成功した(論文4)。その結果、PSIIの内部ではタンパク質、水分子、集光色素などがオーケストラのように協奏的に働き、水の移動や水素イオンの排出を進行させること、また、O6は1マイクロ秒から数百マイクロ秒の間に触媒に取り込まれることなどが明らかになった(図2)。

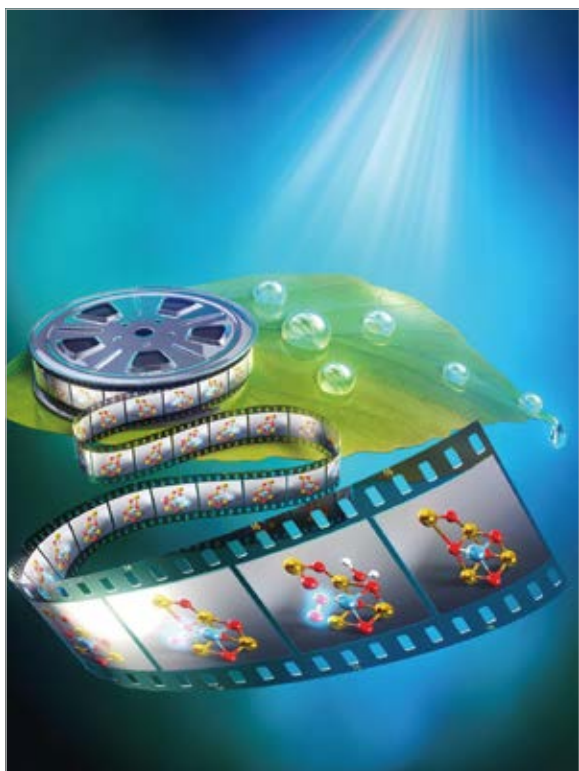


図2: これまでの研究で明らかにした水分解・酸素発生の反応機構

おわりに

この研究は多くの共同研究者の協力のもとに成り立っており、さまざまな分野の共同研究者が力を合わせて大きな仕事を成し遂げてきた。ここで一人一人名前を挙げることはできないが、この場を借りてお礼申し上げます。私たちが行ってきた地道な基礎研究が環境負荷のないエネルギー源を提供するための青写真となり、人工光合成研究へと展開されることを願います。

参考文献(*責任著者)

- [1] **M Suga**, F Akita, K Hirata, G Ueno, H Murakami, Y Nakajima, T Shimizu, K Yamashita, M Yamamoto*, H Ago* and JR Shen*. Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses. *Nature*, 517, 99-103 (2015).
- [2] **M Suga**, F Akita, M Sugahara, M Kubo, Y Nakajima, T Nakane, K Yamashita, Y Umena, M Nakabayashi, T Yamane, T Nakano, M Suzuki, T Masuda, S Inoue, T Kimura, T Nomura, S Yonekura, LJ Yu, T Sakamoto, T Motomura, JH Chen, Y Kato, T Noguchi, K Tono, Y Joti, T Kameshima, T Hatsui, E Nango, R Tanaka, H Naitow, Y Matsuura, A Yamashita, M Yamamoto, O Nureki, M Yabashi, T Ishikawa, S Iwata* and JR Shen*. Light-induced structural changes and the site of O=O bond formation in PSII caught by XFEL. *Nature*, 543, 131-135 (2017).
- [3] **M Suga***, F Akita, K Yamashita, Y Nakajima, G Ueno, H Li, T Yamane, K Hirata, Y Umena, S Yonekura, LJ Yu, H Murakami, T Nomura, T Kimura, M Kubo, S Baba, T Kumasaka, K Tono, M Yabashi, H Isobe, K Yamaguchi, M Yamamoto, H Ago* and JR Shen*. An oxyl/oxo mechanism for dioxygen formation in PSII revealed by X-ray free electron lasers. *Science*, 366, 334-338 (2019).
- [4] H Li, Y Nakajima, E Nango, S Owada, D Yamada, K Hashimoto, F Luo, R Tanaka, F Akita, K Kato, J Kang, Y Saitoh, S Kishi, H Yu, N Matsubara, H Fujii, M Sugahara, M Suzuki, T Masuda, T Kimura, T N Thao, S Yonekura, L-J Yu, T Tosha, K Tono, Y Joti, T Hatsui, M Yabashi, M Kubo, S Iwata, H Isobe, K Yamaguchi, **M Suga*** and JR Shen*. Oxygen-evolving photosystem II structures during S1-S2-S3 transitions. *Nature*, 626, 670-677 (2024).