

提出日：平成 29 年 5 月 18 日

平成 28 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	光化学系 II 蛋白質複合体および光合成関連蛋白質の高圧凍結法による結晶性の改良		
研究代表者	氏名	梅名 泰史	
	所属機関名・部局名	岡山大学・異分野基礎科学研究所	
	職名	特別契約職員准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	中川敦史 教授		
<p>光合成の光エネルギーから電子エネルギーへの変換を担っている光化学系 II 膜蛋白質複合体（以下 PSII）はその反応過程で水を分解して酸素ガスを発生して地球の大気を維持している。この水分解反応を行う活性中心には Mn_4CaO_5 クラスタ（Oxygen Evolving Complex: OEC）が触媒として存在している。2011 年に我々の研究グループは好熱性らん藻由来 PSII の結晶構造を 1.9 \AA 分解能で明らかにすることに成功した (Umena, et al, <i>Nature</i>, 2011)。しかし、PSII における光合成反応を化学的に解明するためには、Mn-O 間の精度の高い構造情報が必要となっている。分解能の問題は結晶化後の抗凍結処理が大きく影響を及ぼしている。ある PSII の変異体は抗凍結剤への置換を経ずに、湿度制御ガスにより脱水・濃縮する Humidity Air and Glue-coating method (HAG 法) (Baba, et al., <i>Acta.D</i>, 2014) によって分解能の改善に成功している（未報告）。しかし、HAG 法は 1 回の処理に数時間を要し、放射光施設 SPring-8 のビームラインで行われている。また、湿度の変化量、コーティング剤の濃度や種類などの多くのパラメーターがあり、最適な条件が得られるまでに多くのビームタイムが必要となる。本研究で使用する高圧凍結法は、オフラインで行うことができ、抗凍結剤への置換を経ずに数十分で結晶を凍結することができる。本実験では PSII の高分解能な結晶調製を目指すと共に、抗凍結剤条件が決まっていない変異体を高圧凍結法で X 線回折強度測定に適した凍結結晶に調製することを目的とする。今回の研究の結果、抗凍結液に置換していない PSII 結晶試料で氷の結晶のリングは確認されないガラス状に凍結することができた。しかし、回折パターンは非常に不鮮明で結晶性が低い状態のままであった。5% のグリセロールを加えた母液に浸漬した結晶、結晶の温度を下げた溶解度を変えた条件などの条件検討を行ったが大きな変化はなかった。やはり PSII 結晶の結晶性を改善するには事前に脱水処理を行うが必要であった。一方で、ヘリウムガスによる装置の加圧によって試料セルの温度が上がっており、結晶の劣化が懸念された。今回の研究では当初の目的には達することができなかったが、装置を温調する改良点や試料の脱水処理等の新たな課題が分かったことから、今後の研究の展開に反映できるものと思われる。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 29 年 5 月 19 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp