

PRESS RELEASE

本リリースは以下の宛先に配信しています。

岡山大学記者クラブ、文部科学記者会、科学記者会、
筑波研究学園都市記者会、大阪科学・大学記者クラブ、
兵庫県政記者クラブ

令和3年3月22日
岡山大学
筑波大学
理化学研究所

光化学系 II の立体構造をクライオ電顕で高精度に決定 ～生体内環境に近い状態での分子構造決定に光明～

◆発表のポイント

- ・光合成過程で水分子を分解して酸素分子を放出する反応を触媒する光化学系 II の立体構造を、クライオ電子顕微鏡（電顕、注1）で高精度に決定しました。
- ・その構造から、タンパク質分子はクライオ電顕観察の際に照射される電子線により損傷を受けるが、電子線量を調節することで損傷を大幅に減少できることが明らかになりました。
- ・これらの研究結果は、すべての生体分子の損傷の無いクライオ電顕構造を決定するための指標となります。

岡山大学異分野基礎科学研究所の加藤公児特任准教授、中島芳樹特任助教、秋田総理准教授、沈建仁教授、筑波大学の宮崎直幸助教、理化学研究所の濱口祐研究員、米倉功治グループディレクター（東北大学 多元物質科学研究所を兼任）らの共同研究グループは、クライオ電子顕微鏡を用いて、シアノバクテリア由来光化学系 II の構造を 1.95 Å ($1 \text{ \AA} = 1 \times 10^{-10} \text{ m}$) の解像度で高精度に決定しました。得られた構造は、クライオ電顕観察の際に照射される電子線により、損傷を受けていました。そこで注意深く電子線量を調節することで、損傷を大幅に減少させ、且つ高精度を保った構造が得られました。この構造は X 線結晶構造解析で解析されたものと類似していましたが、より生体内に近い状態を反映する特徴を持っていました。本研究結果は、日本時間 3 月 22 日（月）19:00（英国時間：22 日 10:00）、英国の科学雑誌「*Communications Biology*」に掲載されました。

この研究成果は、クライオ電顕観察の際に用いられる通常の電子線量ではタンパク質に損傷を与えており、損傷を回避するためには電子線量をどのくらい減少させる必要があるかを決定するための指標となります。

◆研究者からひとこと

この研究は生化学的なタンパク質試料調製法、最先端装置と構造解析法を駆使して、はじめて達成することができました。研究成果を発表するまでには多くの困難がありましたが、共同研究者の皆様、研究室メンバーの協力により得られた成果です。



加藤特任准教授

■発表内容

PRESS RELEASE

<現状>

光合成は藻類や植物が太陽からの光エネルギーを使って、空気中の二酸化炭素と水からほぼ全ての生物にとって必要な炭水化物と酸素を作り出す反応です。この光合成反応の中心的な役割を担うのが、光化学系 I・光化学系 II と呼ばれる膜タンパク質複合体です。これら光化学系タンパク質のうち、光化学系 II は単量体あたり 20 種類のサブユニットが二量体を形成する大きな複合体として存在し、水を分解して酸素を作り出すと同時に、光エネルギーを生物が利用可能な化学エネルギーに変換する働きをしています。この光化学系 II は生物にとって極めて重要なタンパク質であるために古くから研究されており、その構造は X 線を利用した結晶構造解析により高解像度で解析されました。しかし、結晶構造解析法ではタンパク質を結晶という特殊な状態にしなければならず、その状態では水を分解する反応の効率は低下することが報告されていました。また、結晶状態の構造が溶液の構造と同じであるかどうか不明でした。

一方で、クライオ電顕による単粒子構造解析法は近年急速に発展し、X 線結晶構造解析と並んで高精度で構造を決定できる手法となってきました。クライオ電顕による構造解析法では、タンパク質を結晶にすることなく、溶液の状態を試料を急速に凍結して観察できるため、より生体内に近い状態の構造を決定できることが期待されます。

<研究成果の内容>

加藤特任准教授、沈教授、米倉功治グループディレクターらの共同研究グループは、これまで長年にわたり培った技術を利用して、シアノバクテリアから高純度の光化学系 II を精製しました。その光化学系 II をクライオ電子顕微鏡装置（日本電子社 CRYO ARM 300）で観察することにより、1.95 Å の解像度で立体構造を解明しました。これまでに X 線結晶構造解析で決定された光化学系 II の構造の最高解像度が 1.90 Å なので、ほぼ同じ精度の構造を決定することができました。これは、同クライオ電子顕微鏡の冷陰極電界放射型電子銃から発生する干渉性の高い電子ビームを活用した結果となります。しかしながら、クライオ電顕観察の際に一般的に用いられる電子線量で観察したにもかかわらず、光化学系 II の一部の領域に電子線による損傷が見られました（図 1）。そこで段階的に電子線量を変えて構造解析することで、電子線による損傷を大幅に減少させ、尚且つ、高い精度を保った構造（2.08 Å の解像度）が得られました（図 1）。この構造はこれまでに報告されていた X 線による結晶構造と類似していましたが、結晶構造では一部しか確認されていなかった PsbY というサブユニットを完全な状態で確認することができました（図 2）。これはクライオ電顕で決定された構造が、より生体内に近い状態を反映していることを示しています。

<社会的な意義>

シアノバクテリア、藻類、植物などによる光合成のメカニズムを解明することは、人工光合成によるエネルギー生産技術の基礎となり、私たちが抱えている環境問題やエネルギー問題を解決する可能性があるため、世界中で注目されています。今回の研究成果は、太陽光エネルギー有効利用のための技術開発に重要な知見を与えると期待できます。また、クライオ電顕による構造解析では、電子線による試料への損傷が問題になっていますが、今回の成果は、電子線損傷のない状態での構

PRESS RELEASE

造決定の指標にもなります。

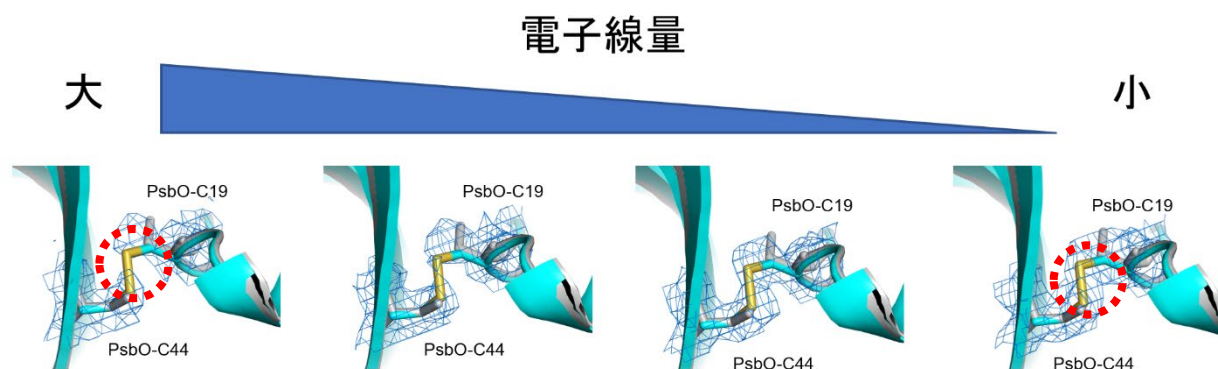


図 1. 光化学系 II の電子線による損傷の様子。

段階的に電子線量を変えて、解析されたクライオ電顕マップと構造モデルを示す。PsbO サブユニットの 2 つのシステイン残基はジスルフィド結合を形成するが、高線量の電子線による損傷を受けた部分は還元されて結合が切断される。青色のメッシュはクライオ電顕マップ、灰色と水色のモデルは、それぞれ高線量と低線量の構造モデル、ジスルフィド結合を黄色で表す。高線量データでは結合が切断されているが、低線量データでは結合が形成されている。どの程度の電子線量で、損傷の少ない構造が得られるかがわかった。

PRESS RELEASE

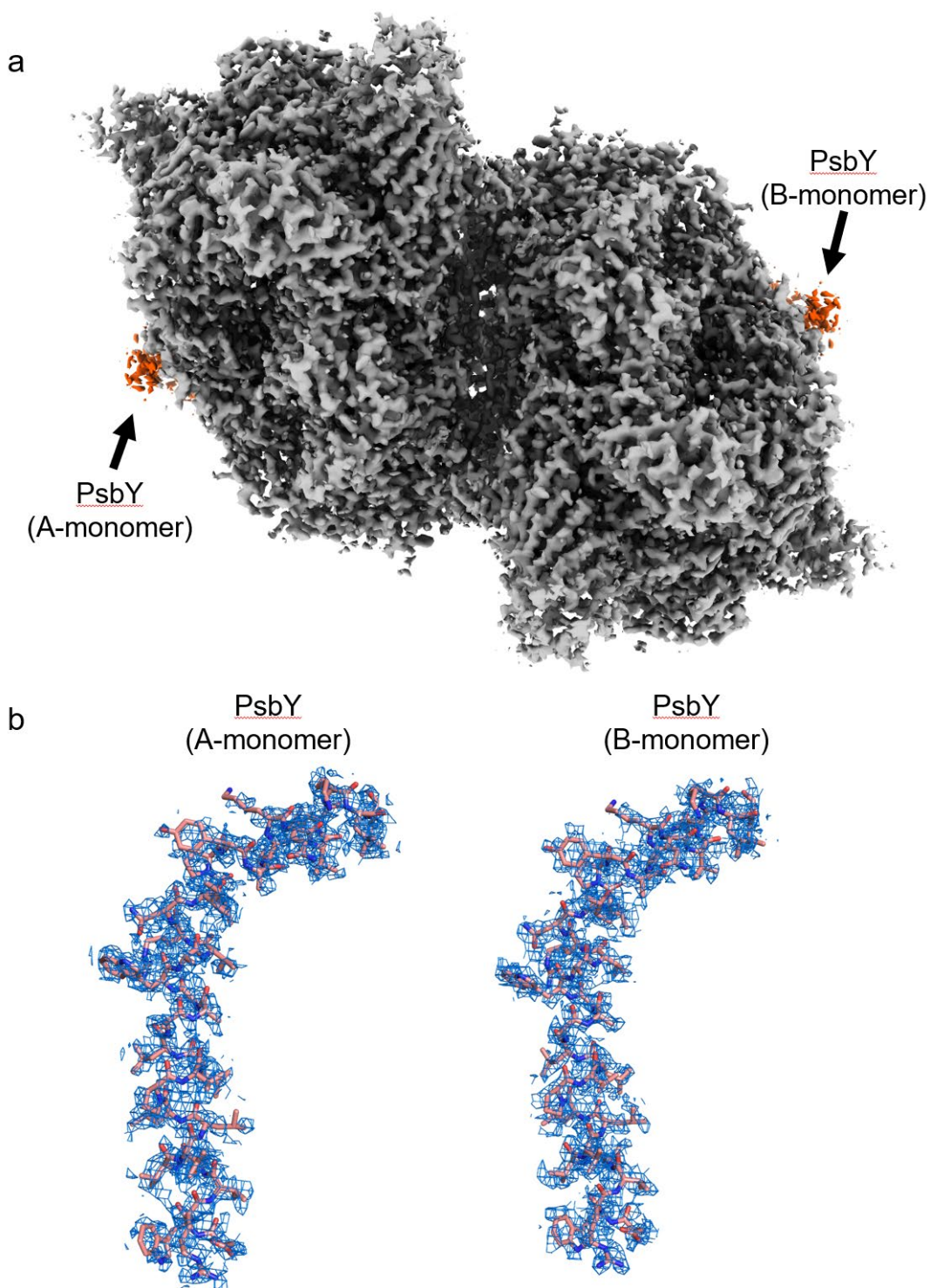


図 2. 光化学系 II の全体構造 (a) とサブユニット PsbY の構造 (b)。

(a) 光化学系 II 全体のクライオ電顕マップを示す。橙色はサブユニット PsbY を示す。(b) PsbY のクライオ電顕マップと構造モデルを示す。水色のメッシュはクライオ電顕マップ、橙色のモデルは PsbY の構造モデルを表す。結晶構造では一部しか確認されていなかった PsbY というサブユニットを完全な状態で確認することができた。

PRESS RELEASE

■論文情報

論文名：“High-resolution cryo-EM structure of photosystem II reveals damage from high-dose electron beams”

「光化学系 II の高精度クライオ電顕構造が高線量電子ビームによる損傷を明らかにする」

掲載紙：*Communications Biology*

著者：Koji Kato, Naoyuki Miyazaki, Tasuku Hamaguchi, Yoshiki Nakajima, Fusamichi Akita, Koji Yonekura and Jian-Ren Shen

DOI：10.1038/s42003-021-01919-3

■研究資金

本研究は、科研費基盤研究 B（課題番号：JP20H02914、JP20H03194）、挑戦的研究（萌芽）（課題番号：JP19K22396）、新学術領域研究（課題番号：JP20H05087、JP17H06434）、科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業 個人型研究（さきがけ）（課題番号：JPMJPR16P1）、日本医療研究開発機構（AMED）創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（(BINDS)「創薬等ライフサイエンス研究のための相関構造解析プラットフォームによる支援と高度化」（課題番号：JP18am0101072）、日本医療研究開発機構（AMED）医療研究開発革新基盤創成事業（CiCLE）、JST 未来社会創造事業（課題番号：JPMJMI20G5）の支援を受け実施しました。

■補足・用語説明

注 1：クライオ電子顕微鏡

液体窒素温度でタンパク質粒子を観察する透過型電子顕微鏡のことです。サンプルへの電子線ダメージを軽減するために液体窒素温度での測定を行います。多数のタンパク質粒子の形状を計測して平均化することで、当該タンパク質の立体構造を解析します。2017 年にノーベル化学賞の受賞対象となった技術です。

PRESS RELEASE

<お問い合わせ>

岡山大学 異分野基礎科学研究所

特任准教授 加藤 公児 (かとう こうじ)

(電話番号) 086-251-8630

(FAX) 086-251-8502

(メール) kkato@okayama-u.ac.jp

同上

教授 沈 建仁 (しん けんじん)

(電話番号) 086-251-8630

(FAX) 086-251-8502

(メール) shen@cc.okayama-u.ac.jp

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター

助教 宮崎 直幸 (みやざき なおゆき)

(メール) naomiyazaki@tara.tsukuba.ac.jp

理化学研究所 放射光科学研究センター 利用技術開拓研究部門 生体機構研究グループ

グループディレクター 米倉 功治 (よねくら こうじ)

(理化学研究所 科技ハブ産連本部 バトンゾーン研究推進プログラム

理研-JEOL連携センター 次世代電子顕微鏡開発連携ユニット ユニットリーダー

東北大学 多元物質科学研究所 教授)

(メール) yone@spring8.or.jp

