

## 1. Introduction

光合成の電子伝達系では、光化学系Iから電子を受け取ったフェレドキシン (Fd) が、ストローマ側に存在する様々な Fd 依存性酵素に電子を分配する。しかし、Fd 依存性酵素は特定の Fd 認識配列を持っておらず、多様な各酵素をどのようにして認識しているのかは不明なままである。フェレドキシン NADP<sup>+</sup>還元酵素 (FNR) は Fd 依存性酵素の一つであり、活性中心にフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) を持つフラビン酵素で、植物プラスチド中で Fd と NADP<sup>+</sup>の酸化還元反応を触媒する。FAD は、酸化型、1 電子還元型のセミキノン型、2 電子還元型のヒドロキノン型の 3 つの立体構造をとることが知られている。Fd は 1 電子キャリアーであるため、FAD は Fd から 1 電子ずつ 2 回の電子移動を経てヒドロキノン型になる。また、Fd から FNR への電子移動が完了すると、Fd と FNR の親和性は 1/20 に低下することが知られているが、これは酸化還元状態によって FAD のコンフォメーションが変化し、周囲の水素結合ネットワークが再編成され、タンパク質のコンフォメーション変化が誘発されるためと考えられる。この高度に制御された電子伝達機構を解明するためには、水酸基を含むすべての原子の座標を決定する必要があり、そのための手法としては中性子結晶構造解析が最も有効な手段である。

## 2. Experiment

前回の実験 (2020PX2010) では、酸化型 FNR の結晶について、室温測定で最大 1.99 Å分解能 (長時間露光)、凍結結晶では最大 2.02 Å分解能 (長時間露光) の回折点を確認することができたが、凍結結晶ではモザイシティが大きいという問題があった。これは、結晶が巨大な故に抗凍結剤の浸透が均一ではなく、結晶全体を均一に凍結することができていないからであると考えた。よって、SPring-8 での回折実験により中性子結晶構造解析に凍結条件を評価する手法を確立し、良いと判断された結晶を中性子回折実験に供した。

## 3. Results

SPring-8 での評価実験で中性子回折実験に適していると判断された結晶は 2 種類あり、1 つは抗凍結剤としてグリセロールを用いた結晶、もう 1 つはエチレングリコールを用いた結晶であった。両結晶を用い、BL03 においてテスト測定を行った結果、抗凍結剤としてグリセロールを用いた結晶で良好な結果が得られ、短時間露光で最大 2.75 Å分解能の回折点を確認することができた (図上段)。

## 4. Conclusion

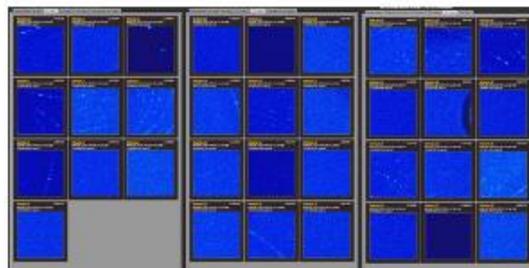
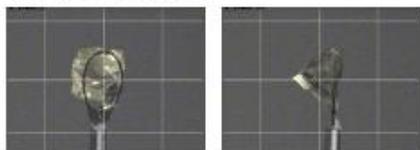
今回の実験で中性子回折強度データを収集する目途が立った。次回のビームタイムでは、抗凍結剤としてグリセロールを用いた結晶を多数準備し、最も良い反射を示した結晶で本測定 (データ収集) を行うことにした。

## 2021PX2013

## 中性子結晶構造解析による光合成電子伝達メカニズムの解明

## ● 酸化型FNR テスト測定

抗凍結剤にグリセロールを用いた結晶の回折パターン  
(25分間露光測定)

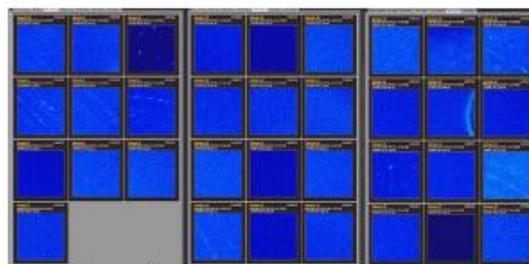
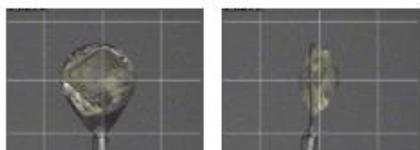


Xtal size 4.24 mm<sup>3</sup>

Resolution

det29: 2.76 Å  
det30: 2.87 Å  
det06: 2.75 Å

抗凍結剤にエチレングリコールを用いた回折パターン  
(25分間露光測定)



Xtal size 4.83 mm<sup>3</sup>

Resolution

det26: 3.35 Å  
det28: 3.29 Å  
det05: 3.43 Å

抗凍結剤にグリセロールを用いた結晶で最も良い回折が得られた

図. 実験結果