

解説

光化学系複合体の結晶解析の歴史とタンパク質結晶解析の初歩

東京大学・大学院総合文化研究科・生命環境科学系

池内昌彦*

1. はじめに

タンパク質の結晶構造解析はいうまでもなく、タンパク質の構造と機能を明らかにするもっとも直接的な手法の1つである。しかし、他の生化学や物理化学的測定とはかなりちがうため、分野外の人々にはややわかりにくい。とくに結晶解析の解釈、つまり構造モデルは直観的にわかりやすいデジタル的であるため、別の意味で誤解しやすい。というか、私のような素人には誤解と驚きの連続である。それでも敢えてこの稿を書くのは、結晶解析に限りない魅力を感じるためである。したがって、正確で系統的な記述ができないことはご容赦いただいて、光合成関連の結晶構造解析のイントロダクションとして、初歩的な構造解析のポイントと光化学系複合体の構造解析の歴史を簡潔に概説する。

(1) 光化学系複合体の結晶解析

光合成における結晶構造解析の転換点はいうまでもなく1984年のDeisenhoferらの光合成細菌 *Rhodospseudomonas viridis* (現在は *Blastochloris* と改名) の光化学反応中心の結晶化と構造決定であった¹⁾。この論文はNatureに投稿したがrejectされたという。彼らはこの解析を進めて、構造を初めて詳細に解いて反応中心の構造を初めて決定した。Deisenhoferら(1985) Natureの論文²⁾は1988年のノーベル賞の対象となったことで有名である。このときの分解能は3.0 Åで、アミノ酸側鎖の決定には不十分であった。そのため、著者のMichelは平行して各サブユニットの遺伝子をクローニングし、これによってアミノ酸配列を決定していた。当初の標品は、電子受容体Q_Bキノンが失われていたが、本来のユビキノンが結合したもの、阻害剤の結合したもの、アミノ酸残基をさまざまに置換したものの構造も決定している。また、これをきつ

けに、他の紅色細菌 *Rhodobacter sphaeroides* の反応中心の解析、カロテノイドなどの解析など詳しい研究が進んでいる。

次の転換点は、光化学系I複合体の結晶構造解析であった。1987年にFordらは好熱性シアノバクテリア *Phormidium laminosus* から単離した光化学系I複合体の結晶化を報告したが³⁾、最初の構造モデルは別の好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* 由来の系I複合体で、独のWittらのグループが1992年に名古屋での国際光合成会議で初めて報告した⁴⁾。Fordらの解析が成功しなかったのは、重原子置換による位相決定ができなかったことによる。Wittらの系Iは12個のサブユニットからなる巨大複合体であったが、当初の分解能は6 Åと低く、アミノ酸残基の同定どころかタンパク質サブユニットの同定もされておらず、わずかに21本の膜貫通 α ヘリックス、45分子のクロロフィル *a*、3個の鉄イオウクラスターが同定できたのみであった(表1)。しかし、この結果は、従来の構造推定がまちがっていないことを実証するとともに複雑な超複合体の構造解析に大きな希望を持たせた。当時、会場で発表を聞いていて、非常に興奮したことをよく覚えている。その後、1996年に4 Åの分解能で決定された構造モデルが発表された⁵⁾。このとき、ほぼタンパク質サブユニットが同定されたが、まだビタミンK1など重要な補因子の所在は不明であった。さらに、2001年に2.5 Åの分解能の構造モデルがほぼ最終版として2000年のブリスベンでの国際光合成会議で提出された⁶⁾。この高分解能の構造の決定には宇宙空間の無重力状態での結晶化も含めてさまざまな試みがされたというが、最終結果に貢献したかどうかは、私の英語力では判然としなかった。ともかく、この高分解能の構造によって、ビタミンK1の位

* 連絡先 E-mail: mikeuchi@bio.c.u-tokyo.ac.jp

表1 光化学系複合体の構造モデルの比較

referencences		PDB ID	解像度	TM*1	タンパク質	補因子(Chl*2を除く)	Chl
Krauss et al. 1993	PSI	なし	6 Å	21 TM	?	3 FeS	45 Chl
Krauss et al. 1996	PSI	1PPS	4 Å	31 TM	11 protein	3 FeS	65 Chl
Jordan et al. 2001	PSI	1JB0	2.5 Å	32 TM	12 protein	3 FeS, 2 VK1, 22 carotenoid, 4 lipid, 1 Ca	96 Chl
Zouni et al. 2001	PSII	1FE1	3.8 Å	36 TM	17 protein	1 NH-Fe, 2 Phae, 2 heme, 4 Mn	32 Chl
Kamiya and Shen 2003	PSII	1IZL	3.7 Å	36 TM	20 protein	1 NH-Fe, 2 Phae, 2 heme, 4 Mn	36 Chl
Ferreira et al. 2004	PSII	1S5L	3.5 Å	35 TM	19 protein	1 NH-Fe, 2 Phae, 2 heme, 4 Mn, 7 carotenoid	36 Chl
Loll et al. 2005	PSII	2AXT	3.0 Å	36 TM	20 protein	1 NH-Fe, 2 Phae, 2 heme, 4 Mn, 11 carotenoid, 14 lipid	35 Chl
Guskov et al. 2009	PSII	3BZ1	2.9 Å	36 TM	20 protein	1 NH-Fe, 2 Phae, 2 heme, 4 Mn, 12 carotenoid, 14 lipid	35 Chl
Ben-Shem et al. 2003	PSI-LHCI*3	1QZV	4.4 Å	45 TM	16 protein	2 VK1, 3 FeS	167 Chl
Amunts et al. 2007	PSI-LHCI	2O01	3.4 Å	45 TM	17 protein	2 VK1, 3 FeS, 5 carotenoid	168 Chl

*1 TM: 膜貫通ヘリックス、*2 Chl: クロロフィル、*3 LHCI: light-harvesting chlorophyll complex of Photosystem I.

置やP700を形成するspecial pairの一方がクロロフィル a エピマーであることなど詳細が初めて判明した。また、それ以前の構造モデルにはなかったPsaXタンパク質が登場して、私は非常に驚いた。

一方、光化学系 II の構造解析は光化学系 I の解析ができると分かってからでも困難を極めた。それはMnクラスターを含む水分解系の安定性に問題があったためである。1990年代後半は2次元結晶の電子顕微鏡像から構造を解く試みが為されたが^{7, 8)}、最終的には2000年のZouniらの3次元結晶の高分解能X線構造解析がブレイクスルーとなった⁹⁾。この標品もまた好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* BP-1由来であったが、当初の分解能 (3.8 Å) と、不十分な電子密度のため、あるはずの表在性PsbUタンパク質が全く見えていないなど問題も多かった。これを契機として、酸素発生活性を保持した光化学系 II の結晶構造解析は、日本の沈・神谷グループ、ロンドンのBarberグループ、ベルリンのSaengerグループの激しい競争になっている¹⁰⁻¹²⁾。まだ、その分解能は2.9 Å~3.6 Å で十分ではないが、さまざまな手法と組み合わせ、詳細な構造が解明されつつある。なお、材料は *Thermosynechococcus elongatus* だけでなく近縁の *T. vulcanus* も使われ、近年はさまざまな突然変異体の結晶構造解析もされている¹³⁾。これらの構造解析されたものはすべて二量体構造であるが、本来の構造に

ついては疑問もある。しかし、単量体の結晶化はこれまで成功していない。

シトクロムb₆f複合体も2002年に構造が解かれた。その材料は好熱性シアノバクテリア *Mastigocladus laminosus*とともに常温性の緑藻クラミドモナスでも成功している^{14, 15)}。前者の場合、Cramerグループの長年の苦労の積み重ねがあったが、栗栖の参画で結晶化が初めて実現した。そのポイントは、精製された複合体から必要な脂質が除かれているため結晶化しないという予想外の点にあった。一方、クラミドモナスのものはヒスタグを導入した株を用いて、マイルドな条件での精製が有効であった。ともかく驚いたことには、どちらの複合体にもクロロフィル a やβカロテン、新規のc型ヘムが特定の部位に結合していた。生化学的には脂溶性のクロロフィルの膜タンパク質標品への混入と特異的な結合を識別することは至難である。しかし、構造解析によってクロロフィルの位置がシアノバクテリアと緑藻で保存されていることが明らかになり、その機能は不明であっても、単なるartifactではなく進化的に意味があると考えられる。

(2) 解析の流れ

結晶解析実験の流れは次のようになる。

目的タンパク質の精製→結晶化→X線回折→位相決定→電子密度マップ→構造モデル→精密化

このうち、回折データの取得からモデルの精密化に至るプロセスは素人にはなかなか理解できないこと、最終結果が「構造モデル」であることが、いろいろ誤解を生みやすい。

精製

結晶すなわち純粋なものといわれているが、不純物があっても結晶化するものも多い。学生のころ、ルビスコの粗抽出品がすぐに結晶化することを知ってとても驚いたことを新鮮に記憶している。また、不純物が結晶化で除かれることも多いので、結晶化ステップを精製ステップとして利用している例もある。シアノバクテリアの光化学系 II 標品にはアロフィコシアニンがしつこく混入しているが、結晶化で除かれることはよく知られている。また、必要以上に精製をくり返すと、タンパク質分解が起きたり、複合体が解体したりすることもあり、どこまで精製するのか判断は難しい。凝集は結晶化の大敵である。ヒスタグを利用して金属アフィニティークロマトグラフィーで精製すると、金属が共溶出してタンパク質の凝集を引き起こすことがある。また、シトクロム b_6f 複合体では、むしろ精製されたものが結晶化しにくかったという。

結晶化

タンパク質の溶液（通常 10 mg mL^{-1} 以上）を結晶化スクリーニング溶液と混合した後、水をゆっくり除去して、析出するタンパク質を結晶として取得するが、不規則な凝集は使いものにならない。結晶の成長速度も標品によってさまざまである。結晶の大きさは $20 \mu\text{m}$ 以上あれば解析できるというが、大きい方が扱いやすい。しかし、見かけが大きく美しい結晶であっても高い分解能の回折像が得られないこともある。また、異なる結晶が融合した混晶は解析できないが、その結晶を小さく分割することで、単結晶として解析できることも多い。とにかく困るのは、前もって目的タンパク質が結晶になるかどうか予測できないことである。PCRで増幅し大腸菌で発現したところ、PCRエラーを含むタンパク質は結晶化したのが、正しい配列のタンパク質は結晶化しなかったという例まである。

X線回折

播磨のSPRING-8などの大型放射光で高輝度X線を用いて、ビームを絞ることで、微少な結晶であっても十分な回折データを取得できる。また、大型放射光ではX線の波長を変えて回折像を撮ることで、重原子の位置を知ることができる。一方、X線照射によるMnクラスターの破壊やフラビンの還元などのartifactも起こるので、酸化還元タンパク質の解析にはとくに注意が必要である¹⁶⁾。

位相決定

X線の回折像から電子密度マップを作成するとき、必要な作業である。ペルーツが考案した重原子置換法だけでなく、セレノメチオニンを利用する方法や既に決定されている類似の構造を元に解く同型置換法などがあり、技術の進歩は日進月歩である。われわれの光受容体タンパク質は重原子置換できなかったが、アポタンパク質の構造決定から同型置換で構造が解けたことには非常に驚いた。

電子密度マップ

素人が解釈できる一種の生データである。このマップに合うように原子を置いていくことで、構造モデルが得られる。しかし、この重要なデータは通常は論文には含まれておらず、特別な議論をするときのみその一部だけが提示されることが多い。このようなデータが公開されない理由はモデル化のための解釈が難しいものが含まれているからかもしれない。また、電子密度マップに含まれるすべての密度が構造モデルに取り込まれているわけではないことに留意する必要がある。

構造モデル

構造モデルは電子密度マップの解釈である。分解能が高いときは両者はよく一致しているので、あまり問題はないが、分解能が低いときは気をつける必要がある。私自身の苦い経験としては、Kraussら(1996)の光化学系 I の結晶構造に、当時私たちが研究していたサブユニットが存在していなかった⁵⁾。それ以外の構造は 4 \AA の分解能にしては精細で、非常に困惑した。ともかく、当時は基礎知識がなかったので、私たちの標品に問題があると判断して研究をその時点で止めてしまった。ところが、Jordanら(2001)では同じ標品の 2.5 \AA モデルでそのサブユニットが PsaX とし

てモデルに登場し⁶⁾、愕然とした記憶がある。

同様の混乱は、光化学系 II でも起きている。たとえば膜貫通ヘリックスの数と位置がモデルごとに異なっている。これは、標品に含まれるサブユニット組成のちがいによるのか、分解能のちがいによるのか、解釈のちがいなのかまだ判然としない。

構造決定の論文ではモデルと実際の構造は渾然と記述されていることが多い。正確には、論文の筆者は区別しているが、分野外の読者にはわかりにくいというべきかもしれない。解釈が微妙な場合でも、その結果がかなり重要なことでも記されていないことも多い。時々、論文に掲載されている電子密度マップ図は微妙な解釈の妥当性を議論することよりも、論文の重要な結論をモデルだけでなく生データでも示すケースの方が多いように思える。粗い分解能ではアミノ酸側鎖の同定ができないことも多い。そのため、ポリアラニンとしてペプチド鎖をモデル化してあることも多い (PDBではUNKとなっている)。

(3) 結晶解析論文を読む

分解能

分解能に応じて、組み立てられるモデルの精度が異なっている。たとえば、光化学系 I 複合体の最初の構造である 6 Å 分解能の構造モデルでは、 α ヘリックスのような特徴的な構造がかるうじて見えているだけであって、アミノ酸残基どころか、ループ領域のほとんどは見えていない。クロロフィルのポルフィリン環は分子が大きく扁平で同定しやすいが、それでも半分以下しか捕らえられていない。しかしながら、このレベルであっても特徴的な鉄イオウクラスタの位置とその配置、さらにその直下にある special pair を形成しているクロロフィル分子などを識別することができる画期的なものであった。表 1 には、各光化学系の複合体の探索結果の概略を示したが、分解能の向上とともに帰属される補因子やタンパク質の数の増加が見てとれる。

原子の識別

多くの構造データでは、電子密度が低い H 原子はほとんど見えていない。1.0 Å 以上の分解能が必要である。また、電子密度をみているので、 H^+ は見えないことになる。

生物学では重要な N と O 原子の識別にも 1.6 Å 以上

の分解能が必要である。これが識別できないと、グルタミン残基などのアミドの向きを特定できない。アミドではこれらの原子の位置がわからないと、水素結合の有無を議論できない。多くの構造モデルでは、より安定な構造をとるようにアミドの向きを指定しているが、あくまでも仮定である。タンパク質全体の安定化において水素結合などのローカルな安定構造を必ずとっているという保証はない。

酸化還元物質の安定性

光合成や呼吸の反応の多くは酸化還元反応であり、その反応に関与する物質はしばしば X 線の照射による還元を受けることがある。たとえば、光化学系 II の Mn クラスタは X 線によって容易に破壊される。また、フラビンのイソアロキサジン環も還元され、周囲の配位構造も変化するという。このため、結晶の照射部位を変えたり、結晶を頻繁に取りえたりして、X 線の照射時間を短縮する努力が払われている。

決定できない構造

高分解能の構造であっても注意すべき点がいくつかある。すべての構造は均等に見えているわけではない。電子密度を明瞭にとらえられるのは結晶内の繰り返しユニットの構造がそろっているところである。逆にいえばループなど構造がふらふらしているところだけでなく調節酵素のように構造が変化したり、複数のコンフォメーションが共存したりするところははっきり見えない。典型的な例では、シトクロム bc_1 複合体のリースケ型鉄イオウタンパク質が有名である。つまり、その鉄イオウクラスタが電子を受取るシトクロム b に近い位置と、電子を渡すシトクロム c_1 に近い位置の 2 つの像が同時に得られた¹⁷⁾。このことから、鉄イオウタンパク質が約 16 Å 移動して電子を伝達すると考えられている。また、キノンの結合の首振り運動も構造解析から直接推定することができた。

タンパク質の構造が正常に決定されても、特定の部位の構造を決定できないこともよくある。結晶構造は規則的な繰り返し構造として解かれるので、非対称ユニットごとに微細構造が異なっていると解けない。その典型例は膜タンパク質複合体の中の脂質分子の位置である。光化学系 II や系 I の構造内に同定さ

れている脂質分子の数は、標品の化学分析で得られる数値よりもはるかに低いのはこのためである。一方、シトクロム酸化酵素では化学定量に一致した脂質分子が構造内に同定されている。これは分解能が高いことにもよるだろうが、標品から弱く結合した脂質が取り除かれていることを示している。

分子内の局所的な構造の不均一性も構造決定をあいまいにするが、分解能が高いデータでは、ひとつの構造モデルに2種の構造を同時に記載していることもある。これは論文の本文に書かれていないことも多く、PDBデータをみて初めて分かることもある。ともかく既成概念に反する構造モデルに精密化によって到達することも時々あり、PDBデータをみる楽しみでもある。

非対称ユニット間のちがいがい

結晶構造は、単位結晶格子の繰り返し構造であり、これにX線を照射したときの回折像は単位格子の回折の積算データとして得ていることになる。さて、この単位格子が1個のタンパク質であればわかりやすいが、複数個入っていることも多い。このような単位格子内の分子セットを非対称ユニットという。非対称ユニット内に複数の同一タンパク質が存在する場合、それぞれの構造は別々に解かれる。これは非常に手間のかかる作業であるが、重要な情報をもたらすことがある。そのもっとも有名な例は、F1-ATPaseである。F1の $\alpha\beta$ 三量体が γ サブユニットとの相互作用によって3種の異なる構造をとっていて、ATP加水分解の異なる状態を反映していると考えられている¹⁸⁾。

われわれが発表したフラビン型光受容体 TePixD (Th0078) は分子質量 16.5 kDa の小さい水溶性タンパク質であるが、10量体で単離され、その構造は 2.0 Å の分解能で解くことができた。この構造を詳細にみると、分子内シグナリングにおいて重要な役割を果たしている Met93 残基と Trp91 残基の配置はサブユニットごとに微妙にちがっており、そのうちの1つは Met 側鎖の向きが大きく異なっていた。これらは論文中では述べていないが、分子内シグナリングにおけるこれらの残基の動きを反映しているのかもしれない。さらにこの後、このタンパク質のホモログ (Slr1694 もしくは SyPixD) の結晶構造も決定されたが¹⁹⁾、この構造モデルには TePixD とは異なる重大なちがいがあっ

た。結晶系が異なるある結晶では、10量体のうちの1つのサブユニット、他方では2つのサブユニットが上記の Met93 と Trp91 の配置が TePixD の場合と逆の関係になっていたのである。これは分子内の特定の部位がおおまかには2種の安定な構造を取ることを示唆しており、非常に興味深い。このような構造の多型の理由は10量体の結晶内のパッキングにおいて、この逆転したサブユニットがとくべつな歪みが加わったことと説明されている。なお、論文での解釈は、この歪みを受けたサブユニットの構造が本来のもので、他の多数のサブユニットの構造が光で活性化された型としている。ともかく、活性調節を受けるタンパク質は構造変化を起こしやすいと考えられ、そのvariationには注意する必要がある。

また、上で述べたシトクロム b_c1 複合体の鉄イオウタンパク質の2つの異なる像は、非対称ユニット内の構造が2種類あることを示している。

タンパク質間の境界

タンパク質複合体において、サブユニット間の境界領域における活性部位の形成は構造解析によって初めて理解できるわかりやすい例である。古くは、ルビスコの活性部位が RbcL ホモ二量体の境界にあることは有名である。高等植物のサブユニット構造は L8S8 であるが、光合成細菌では L2 型で存在しており、これが酵素としての最小単位である。またシトクロム b_6f 複合体のホモ二量体におけるリースケ型タンパク質の鉄イオウクラスタードメインは二量体の相手方の単量体と相互作用している。このため複合体を単量体にするとう電子伝達の活性が失われる。このようなしくみが進化においてどのように獲得されたのかよく分かっていないが、多くのタンパク質で見つかっている。一方、光化学系 II 複合体はシアノバクテリアから高等植物まで広くホモ二量体が分布しているが、単量体でも活性があり、二量体でなければならない理由は分かっていない。また、光化学系 I 複合体はシアノバクテリアでは3量体であるが、真核の緑色植物では単量体であり、3量体化にかかわる PsaL サブユニットの役割も議論されているが、この遺伝子はなぜか高等植物にも存在している。

もうひとつ驚くべき例として、クロロフィル分子の結合部位がある。紅色細菌の光化学系やシアノバクテリアの系 II 複合体では、クロロフィル分子は各サブ

ユニットの内部に埋め込まれており、クロロフィルを結合しないサブユニットと厳然と分かれている。ところが、光化学系I複合体には、予想外のサブユニット (PsaF, PsaK, PsaL, PsaM) が11個のクロロフィルのMgイオンと配位している⁹⁾。系 II では、このような反応中心以外のサブユニットにはクロロフィルが全く結合していないことを考えると、系 I と系 II は異なる方向へ進化したと考えざるを得ない。もっと驚くべきことは、高等植物の系 I – LHCI 超複合体にある。この構造を見ると、膜を3回貫通する典型的なLHCサブユニット内部にクロロフィルが結合しているだけでなく、LHCサブユニットと系 I コア複合体の境界に10分子のクロロフィルが結合している。これは、LHCサブユニットが系 I のアンテナとして超複合体を形成する進化を遂げたとき、LHCから系 I へのエネルギー転移の効率化のためさらなるクロロフィルの結合が平行して進化したことを意味している。このようなクロロフィルの存在は生化学的なサブユニットの解体実験では実証することができないもので、超複合体の構造解析で初めて明らかになるといえる。

参考文献

- Deisenhofer, J., Epp, O., Miki, K., Huber, R., and Michel, H. (1984) X-ray structure analysis of a membrane protein complex. Electron density map at 3 Å resolution and a model of the chromophores of the photosynthetic reaction center from *Rhodospseudomonas viridis*, *J. Mol. Biol.*, *180*, 385-398.
- Deisenhofer, J., Epp, O., Miki, K., Huber, R., and Michel, H. (1985) Structure of the protein subunits in the photosynthetic reaction centre of *Rhodospseudomonas viridis* at 3Å resolution., *Nature*, *318*, 618-624.
- Ford, R. C., Picot, D., and Garavito, R. M. (1987) Crystallization of the photosystem I reaction center., *EMBO J.*, *6*, 1581-1586.
- Krauss, N., Hinrichs, W., Witt, I., Fromme, P., Pritzkow, W., Dauter, Z., Betzel, C., Wilson, K. S., Witt, H. T. and Saenger, W. (1993) Three-dimensional structure of system I of photosynthesis at 6 Å resolution, *Nature*, *361*, 326-331.
- Krauss, N., Schubert, W. D., Klukas, O., Fromme, P., Witt, H. T., and Saenger, W. (1996) Photosystem I at 4 Å resolution represents the first structural model of a joint photosynthetic reaction centre and core antenna system, *Nat. Struct. Biol.*, *3*, 965-973.
- Jordan, P., Fromme, P., Witt, H. T., Klukas, O., Saenger, W., and Krauss, N. (2001) Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution, *Nature*, *411*, 909-917.
- Nakazato, K., Toyoshima, C., Enami, I., and Inoue, Y. (1996) Two-dimensional crystallization and cryo-electron microscopy of photosystem II, *J. Mol. Biol.*, *257*, 225-232.
- Rhee, K. H., Morris, E. P., Barber, J., and Kuhlbrandt, W. (1998) Three-dimensional structure of the plant photosystem II reaction centre at 8 Å resolution, *Nature*, *396*, 283-286.
- Zouni, A., Witt, H.T., Kern, J., Fromme, P., Krauss, N., Saenger, W., and Orth, P. (2001) Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 Å resolution, *Nature*, *409*, 739-743.
- Kamiya, N., and Shen, J. R. (2003) Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II from *Thermosynechococcus vulcanus* at 3.7-Å resolution, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, *100*, 98-103.
- Ferreira, K. N., Iverson, T. M., Maghlaoui, K., Barber, J., and Iwata, S. (2004) Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center, *Science*, *303*, 1831-1838.
- Guskov, A., Kern, J., Gabdulkhakov, A., Broser, M., Zouni, A., and Saenger, W. (2009) Cyanobacterial photosystem II at 2.9-Å resolution and the role of quinones, lipids, channels and chloride, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, *16*, 334-342.
- Kawakami, K., Iwai, M., Ikeuchi, M., Kamiya, N. and Shen, J. R. (2007) Location of PsbY in oxygen-evolving photosystem II revealed by mutagenesis and X-ray crystallography, *FEBS Lett.*, *581*, 4983-4987.
- Kurusu, G., Zhang, H., Smith, J. L., and Cramer, W. A. (2003) Structure of the cytochrome *b₆f* complex of oxygenic photosynthesis: tuning the cavity, *Science*, *302*, 1009-1014.
- Stroebel, D., Choquet, Y., Popot, J. L., and Picot, D. (2003) An atypical haem in the cytochrome *b₆f* complex, *Nature*, *426*, 413-418.
- Yano, J., Kern, J., Irrgang, K. D., Latimer, M. J., Bergmann, U., Glatzel, P., Pushkar, Y., Biesiadka, J., Loll, B., Sauer, K., Messinger, J., Zouni, A., and Yachandra, V. K. (2005) X-ray damage to the Mn₄Ca complex in single crystals of photosystem II: a case study for metalloprotein crystallography, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, *102*, 12047-12052.
- Zhang, Z., Huang, L., Shulmeister, V. M., Chi, Y. I., Kim, K. K., Hung, L. W., Crofts, A. R., Berry, E. A., and Kim, S. H. (1998) Electron transfer by domain movement in cytochrome *bc₁*, *Nature*, *392*, 677-684.
- Abrahams, J. P., Leslie, A. G., Lutter, R. and Walker, J. E. (1994) Structure at 2.8 Å resolution of F1-ATPase from bovine heart mitochondria, *Nature*, *370*, 621-628.
- Yuan, H., Anderson, S., Masuda, S., Dragnea, V., Moffat, K., and Bauer, C. (2006) Crystal structures of the *Synechocystis* photoreceptor Slr1694 reveal distinct structural states related to signaling, *Biochemistry*, *45*, 12687-12694.