

2P041

ビランジ由来プラストシアニン S(Cys)→Cu 電荷移動状態からの 超高速緩和過程

(阪大院基礎工¹, 阪大ナノ機構², 阪大極量セ³, 奈良先端大物質創成⁴, 名城大総研⁵)
○藤田賢治¹, 片山哲郎¹, 石橋千英¹, 笠嶋辰也^{1,2}, 長澤 裕^{1,3}, 宮坂 博^{1,3},
長尾 聡⁴, 高倍昭洋⁵, 廣田 俊⁴

【序】プラストシアニンは緑藻類や高等植物の葉緑体の中のチラコイド内腔に存在するブルー銅タンパク質の一つであり、その活性部位に銅イオンを中心として四つのアミノ酸残基であるシステイン、二つのヒスチジン、メチオニンが配位したひずんだ四面体構造をもつ。タンパク質骨格によって強制的に捻じ曲げられたその特異な構造は、波長 600 nm 付近に特徴的な S(Cys)→Cu 配位子-金属電荷移動 (Ligand-to-metal charge transfer, LMCT) 吸収帯を示す要因となっている^[1]。

プラストシアニンは、光合成系においては光化学系 II のシトクロム b₆-f 錯体のシトクロム f によって還元されたプラストシアニンがチラコイド内腔を拡散し電子を光化学系 I の P700⁺に受け渡すことで光化学系 I・II の間の電子伝達の役割を担っており^[2]、活性部位の銅イオンから配位子であるシステインの S 原子を経由する電子移動を起こすことにより電子伝達が行われていると考えられている。

LMCT 吸収帯における電荷移動はシステインの S 配位子と銅イオンの結合を通して起こるため、我々は超短パルスレーザーによって誘起される LMCT 状態から基底状態への緩和過程を観測することにより、電子移動反応の機構について知見を得ることができると考えた。今回は、ビランジ由来プラストシアニンを対象とし、600 nm 付近の LMCT 吸収帯の光励起に続く電荷分離状態からの超高速緩和過程を、フェムト秒過渡吸収スペクトル法により観測した。また、800 nm 付近にある d-d 遷移吸収帯励起の場合の挙動と比較を併せて行った。

【実験】プラストシアニンは定法に従い、形質転換された大腸菌を培養し発現させたものを透析及びイオン交換クロマトグラフィーによって精製して用いた。溶媒には 10 mM Tris-HCl バッファー (pH : 7.4, 20°C) を用い、厚さ 0.5 mm の回転セルで吸光度が 1.0 程度になるよう濃度を調整し測定に用いた (Fig.1)。

フェムト秒過渡吸収スペクトル測定には、LMCT 吸収帯励起の波長として 585 nm のフェムト秒パルスを用いて発生させ、d-d 遷移吸収帯励起には Ti:Sapphire レーザーの基本波である波長 800 nm を用いた。観測光である白色光は Ti:Sapphire レーザーの基本波を石英板に導入し発生させたものを用いた。

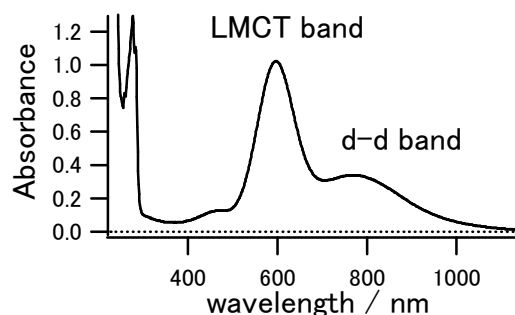


Fig.1 ビランジ由来プラストシアニンの
吸収スペクトル

【結果と考察】フェムト秒 585 nm 及び 800 nm レーザーパルス励起により、LMCT 吸収帯と d-d 遷移吸収帯をそれぞれ励起して得られた過渡吸収スペクトルを Fig.2 に示す。いずれの励起波長においても 500 nm 付近に励起状態の吸収によるブロードな正の吸収帯、600 nm 付近およびその長波長側に基底状態のブリーチが観測された。(585 nm 励起の場合には励起光の散乱が入るためにこの波長範囲は観測できない。)

いずれの励起波長においても全ての観測波長で、励起直後のコヒーレントアーティファクトと思われる鋭い信号の後、過渡吸光度が立ち上がり、200-300 fs の成分と数 ps の成分の二成分の減衰が確認された。Fig.3 に見られるように、これらの時定数は励起波長に依存しないことから、LMCT 状態から d-d 状態への遷移は迅速に起こっており、d-d 状態からは 200-300 fs で基底状態へ緩和していることが考えられる。数 ps の成分については、d-d 遷移吸収帯の中には複数の電子状態 (ligand field 状態, LF 状態) が存在しており³⁾、そのいずれかの準位にトラップされた、もしくは高位振動状態が生成している可能性がある。

LMCT 状態から LF 状態への緩和過程については、Fig.3 に示すように時間原点付近が実験的なアーティファクトによって不明瞭であり確認できていない。この観測できていない時間領域で緩和過程が観測される可能性があるため、NOPA による、より時間分解能の高い装置で再測定を行う予定である。過渡吸収スペクトルの中にはこの他に、励起後数百 fs で生成してくる 670 nm 付近の正の吸収帯の生成が観測されており、発表ではこれらの結果も含めたダイナミクスに関する詳細な議論を行なう予定である。

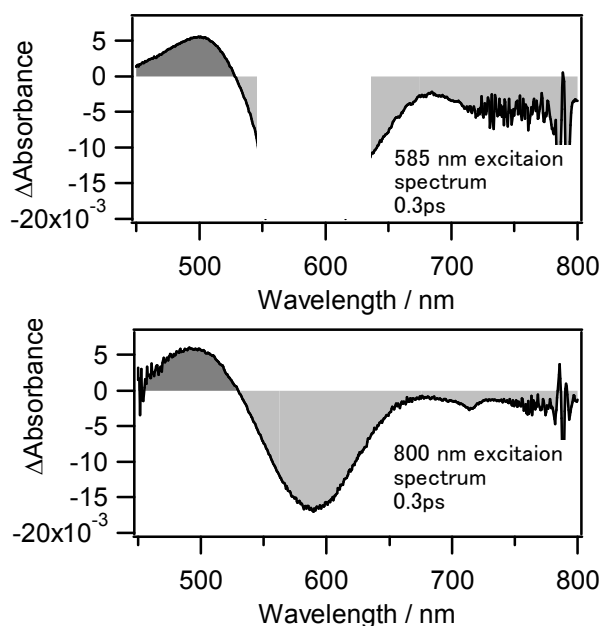


Fig.2 プラストシアニンの 585 nm 励起 (上)、及び 800 nm 励起 (下) の 0.3 ps における過渡吸収スペクトル測定結果。

【参考文献】

- [1] Lippard, S. J., Berg, J. M. Blue Copper Proteins. Principles of Bioinorganic Chemistry (1994) 237-242
- [2] Freeman, H. C., Guss, J. M. Plastocyanin. Handbook of Metalloproteins (2001), 2 1153-1169
- [3] Lewis D. Book et al. J. Phys. Chem. A 1998, 102, 4350-4359

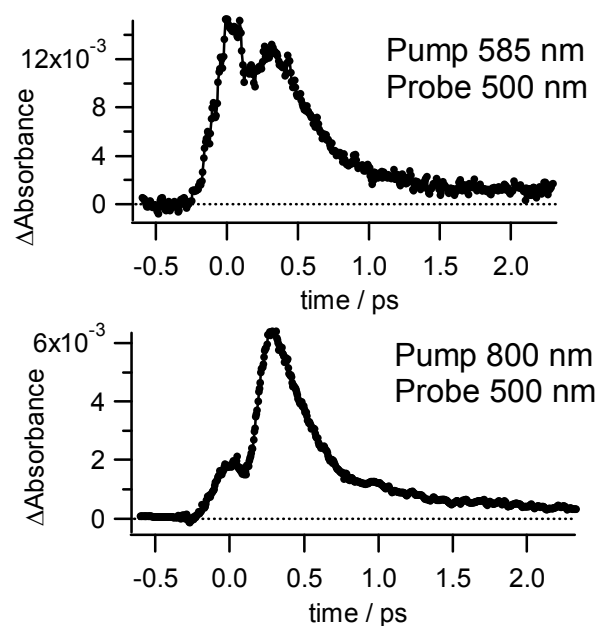


Fig.3 プラストシアニンの 585 nm 励起、及び 800 nm 励起での 500 nm 観測の過渡吸収測定結果。