

3P057

## 光化学系 I 反応中心の高時間分解多周波EPR研究

(東北大多元研<sup>1</sup>, Argonne National Laboratory<sup>2</sup>, University of Freiburg<sup>3</sup>) ○松岡秀人<sup>1</sup>、西山圭<sup>1</sup>、山内清語<sup>1</sup>、Oleg Poluektov<sup>2</sup>, Lisa Utschigm<sup>2</sup>, Marion C. Thurnauer<sup>2</sup>, Gerd Kothe<sup>3</sup>

【序】光合成反応中心の構造を電子伝達成分からみた場合、反応中心タンパクがホモダイマーで鉄硫黄クラスターが電子伝達に関与する光化学系 I (PS I: Photosystem I) と、ヘテロダイマーの反応中心タンパクをもちフェオフィチン-キノンが電子伝達に関わる光化学系 II (PS II: Photosystem II) が存在する。PSIはタンパク質レベルにおいて疑似2回回転対称軸が存在し、従来は2つの電子伝達系の一方しか電子が流れないとされていた。しかし最近、その対称構造の両方で電子移動が起こることを支持する実験結果が出始めており<sup>[1]</sup>、多くの論争がなされている。ラジカルペア $P700^+A_1^-$ は、PS Iの初期電子移動過程において時間分解EPRにより検出できる最初の中間体である。 $P700^+A_1^-$ の電子・分子構造を明らかにすることは、PSI電子移動過程を理解する上で重要であり、本研究は高時間分解多周波EPR研究によりラジカルペア $P700^+A_1^-$ の構造に関する知見を得ることを目的とする。

【実験】試料として、重水素化 (全体の99.7%) ならびに<sup>15</sup>N置換 (95%) した好熱性シアノバクテリア *synechococcus lividus* を用いた。凍結乾燥した試料を、凍結保護剤として重水素化グリセロール (体積濃度50%) を含む重水素化トリス - 塩酸緩衝剤 (pH = 7.5) の中で再水和させた。調整した懸濁液を石英キャピラリーの中に注入し、EPR測定を行った。高磁場・高周波W-band EPR測定はBruker社製ELEXSYS E680分光器を用いて行った。キャピラリーに注入した試料を200Kの暗室で一晩放置したあと、EPRキャビティの外で液体窒素で凍結させ、80 K付近に冷却したクライオスタットに移した。試料の光励起はQuanta-Ray PRO Series Pulsed Nd:YAGレーザー(PRO-270)を励起光源とする光パラメトリック発振器 (MOPO-SL) を用いた。レーザーの出力はおよそ1 mJ/pulseに調整した。EPR共振器内での試料の光照射は光ファイバーを利用して行った。

【結果】PSIの電荷分離状態は、電子供与体クロロフィル P700の光励起により開始され、その後電子はP700の励起一重項状態から電子受容体クロロフィル  $A_0$  へ、さらにフィロキノン  $A_1$  へと移動する。スピン相関ラジカルペア  $P700^+A_1^-$  は、室温において次の受容体である鉄-硫黄センターへの電子移動により、およそ200 nsで失活する。一方低温において、鉄-硫黄センターへの電子移動が部分的に阻害され、ラジカルペア  $P700^+A_1^-$  の寿命は電荷再結合を主

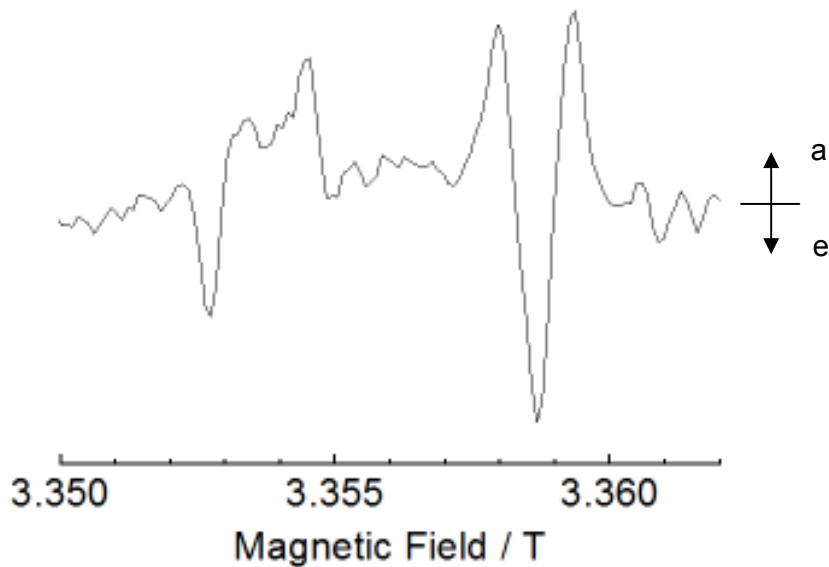


図 光化学系 I 反応中心における光誘起ラジカルペア  $P700^+A_1^-$  の過渡的 W-band EPR スペクトル：マイクロ波周波数 94.1421 GHz, 温度 80 K, 励起波長 532 nm. 光励起後 800 ns であり、正および負の信号はそれぞれ absorptive および emissive polarizations を示す。

要因としておよそ 150  $\mu$ s となる。

図には 80K で観測された光誘起ラジカルペア  $P700^+A_1^-$  の過渡的 94 GHz EPR スペクトルを示す。試料を高磁場中で凍結させた場合、試料が EPR 試料管内で磁場配向することをすでに報告しており<sup>[2]</sup>、図の測定は凍結させた試料を磁場中に移送することで、完全に無配向状態のスペクトルを得た。光誘起ラジカルペア  $P700^+A_1^-$  の構造および配向に関する詳細な情報は、レーザー励起後の早い時間に観測されるコヒーレント振動から抽出される。9.5 および 34 GHz 帯においては、すでに無配向試料に対して量子ビートの観測ならびに解析を行っているが<sup>[2]</sup>、Bruker 社製の 94 GHz EPR 分光器に備え付けられているプリアンプでは、測定に必要な帯域幅の条件を満たしていない。そこで、これまで我々が開発してきた高時間分解 94 GHz EPR 分光器を適用し、高磁場・高周波下での量子ビート観測を目指している。現在のところ、解析に耐えうる十分な S/N 比が得られておらず、試料濃度、温度、レーザー光強度など実験条件の最適化を行っている。

#### 【参考文献】

1. A. R. Holzwarth, M. G. Müller, J. Niklas, and W. Lubitz, *Biophys. J.* **2006**, *90*, 552.
2. G. Link, T. Berthold, M. Bechtold, J.-U. Weidner, E. Ohmes, J. Tang, O. Poluektov, L. Utschig, S. L. Schlesselman, M. C. Thurnauer, and G. Kothe, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4211-4222.