

酸素発生光化学系 II 複合体の CW/パルス EPR 研究

(東北大多元研¹、岡山大自然²、分子研³、アガペ甲山医学研⁴) ○松岡秀人¹、沈建仁²、小瀧拓也¹、大庭裕範¹、山内清語¹、古川貢³、中村敏和³、河盛阿佐子⁴

【序論】酸素発生を担う光化学系 II (PSII) 反応中心複合体の 3 次元構造は、これまでに複数の研究グループにより明らかにされてきた。しかし最も高い空間分解能でも 2.9Å であり、クロロフィルへの電子ドナー分子 (チロシン残基 Yz) や酸素発生中心 Mn₄クラスターなど小分子の構造や分子配向の精密決定には至っていない。また、Mn₄クラスターの酸化状態がX線照射により変化することも示唆されており、非破壊的かつ選択的に常磁性種を観測できる EPR 法は酸素発生メカニズムを解明する上で有用な研究手法になると考えられる。そこで本研究では、シアノバクテリア由来 PSII 反応中心の単結晶および凍結溶液試料を用いて、X-, Q-, W-band EPR 分光法による実験を行った。さらに、高感度かつ高分解測定を可能とするW-band パルス EPR 装置の開発も行った。

【結果と考察】**1. チロシン Yz**

273K 付近でキセノンランプによる光照射後、直ちに液体窒素で試料を凍結させることでチロシンラジカル Yz を捕捉し、多周波 EPR 測定を行った。図 1 には凍結溶液試料に対して得られたスペクトルを示す。点線は室温付近で Yz ラジカルを失活させたのち測定したアニール後のスペクトルであり、実線は光照射直後からアニール後を引いた差スペクトルを示す。前者は安定なもう一つのチロシンラジカル Yd のスペクトル、後者は Yz ラジカルに帰属される。図 2 には同様にして得ら

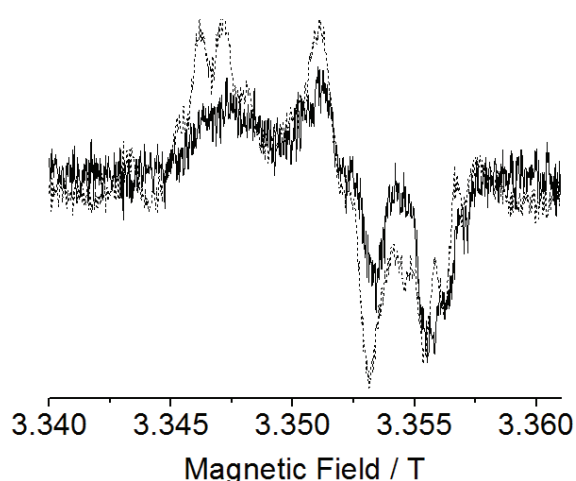


図1 凍結溶液試料を用いて 80K で測定したチロシンラジカル Yz の W-band EPR スペクトル: 点線はアニール後の(Yd)、実線は光照射後からアニール後を引いたスペクトル(Yz).

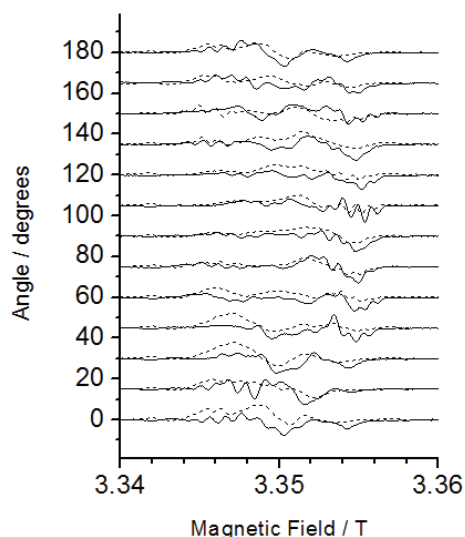


図2 単結晶試料を用いて 80K で測定したチロシンラジカル Yz の W-band EPR スペクトル: 点線はアニール後の(Yd)、実線は光照射後からアニール後を引いたスペクトル(Yz).

れた Yz ラジカルおよび Yd ラジカルの単結晶 W-band EPR スペクトルを示す。小さな g テンソルの異方性にも関わらず、明確な角度変化を観測することができた。しかし、完全解析を行うには、溶液・単結晶試料ともにマイクロ波飽和の影響を排除したパルス EPR 測定が必要と考えられる。そこで我々は、すでに所有している W-band EPR 装置をパルス化するため、新たにパルスマイクロ波ブリッジとその制御システムの構築を行った。パルスマイクロ波ブリッジの構成は、まず誘電体共振器型発振器により 7.300GHz のマイクロ波を発振し、それを IMPATT CW frequency multiplier により 13 倍に逡倍する。そして得られた 94.9GHz のマイクロ波を high speed PIN switch によりパルス化し、パルス EPR 測定を可能とした。ブリッジの制御は National Instrument 社の Labview プログラムを用いることで行った。構築した W-band パルス EPR 装置を用いて、凍結溶液試料中のチロシンラジカルの EPR 測定を行った。なお、EPR 共振器内でも効率よく光照射するため光ファイバーを組み込んだサンプルホルダーを用いた。得られたスペクトルを図 3 に示す。マイクロ波飽和の影響を排除した S/N 比の良いスペクトルを得ることができた。現在、パルス EPR 法による単結晶 EPR 実験を行うとともに、スペクトルシミュレーション法を用いた解析から、チロシンラジカル Yz の磁気パラメータの決定を行っている。

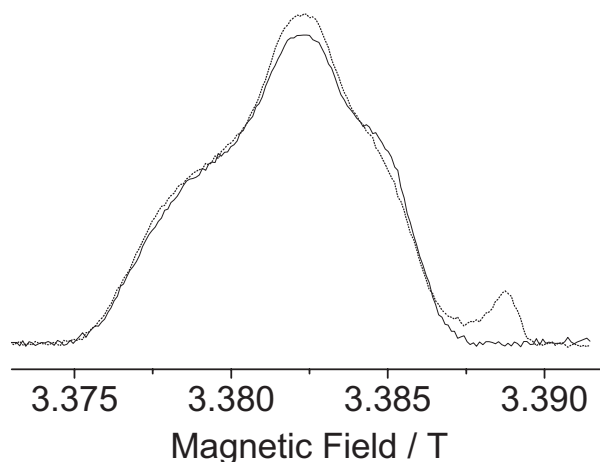


図 3 凍結溶液試料を用いて 80K で測定したチロシンラジカルの W-band パルス EPR スペクトル: 点線はアニール後の(Yd)、実線は照射後からアニール後を引いたスペクトル(Yz).

2. 酸素発生中心 Mn_4 クラスター

本研究ではさらに、構築した W-band パルス EPR 装置を用いて、酸素発生中心 Mn_4 クラスターのパルス EPR 測定を行った。200K で 3 分間キセノンランプによる光照射を行い、その後 80K まで急冷したのち光照射を止めて、測定温度まで試料を冷却することで S_2 状態を補足した。なお光照射は、EPR 共振器内で行った。得られた結果を図 3 に示す。3.38T 付近にシャープなチロシンラジカル由来のシグナルに加えて、0.2T 以上に渡るブロードな Mn_4 クラスター由来のシグナルを観測した。 $\pi/2$ パルスは 28ns、積算回数は 500 である。ドイツのグループがすでに市販の Bruker 社製 W-band パルス EPR 装置を用いて、 Mn_4 クラスター由来のパルス EPR スペクトルの観測を行っているが、それよりもひと桁少ない積算回数で同等の S/N 比のスペクトルを観測することができた。このことより、構築したパルス EPR 装置の高い感度を確認することができ、十分に微小な単結晶試料を用いた測定に適用可能であることがわかった。今後、単結晶パルス EPR 測定を行うとともに、精確な磁気パラメータの決定を行う予定である。

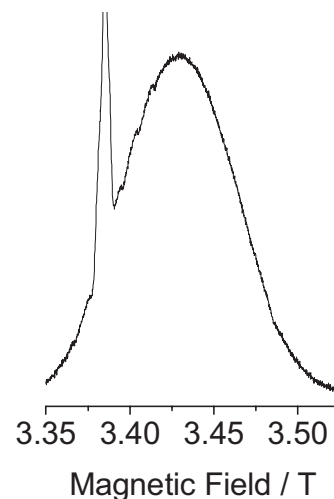


図 4 凍結溶液試料を用いて 6K で測定した酸素発生中心 Mn_4 クラスターの W-band パルス EPR スペクトル.