

2B03

光合成酸素発生反応におけるプロトン共役電子移動の高周波 ESR 研究

(東北大多元研¹, 岡山大院自然², アガペ甲山医研³) ○松岡秀人¹, 沈建仁², 河盛阿佐子³, 伊東信哉¹, 大庭裕範¹, 山内 清語¹

【序論】酸素発生型光合成反応の根幹をなす水分解-酸素発生反応は、光化学系 II 反応中心複合体で行われる。最近、光化学系IIの結晶構造解析が原子レベルの高い空間分解能で明らかにされ、チロシン残基 Yz を含むプロトン共役電子移動経路の存在が示唆された[1]。チロシン残基 Yz は、その酸化還元力から酸素発生反応において重要な役割を担うことが以前から期待されているが、実際にチロシン残基 Yz が水分子から水素を引き抜く役目を担っているのか否かについては多くの議論がなされている。本研究では、Yz の水素結合構造とプロトン共役電子移動反応機構の解明を目指して、単結晶光化学系 II に対する高周波(95GHz)パルス ESR と DFT 計算による研究を行った。

【実験】好熱性らん藻 *Thermosynechococcus vulcanus* から光化学系 II 複合体を単離・精製し、単結晶試料を作成した[1]。Yz ラジカルを安定に捕捉するため、ヒドロキシルアミン(NH₂OH)を用いて酸素発生中心 Mn₄ クラスターを取り除いた。高周波パルス ESR 測定は、Bruker 社製 ELEXSYS E600 分光器にマイクロ波パルスブリッジ(94.9GHz)を組み込むことで構築した。

【結果と考察】光化学系 II 反応中心における電子伝達系として 4 核の Mn₄ クラスター、チロシン残基(Yz)、二量体クロロフィル(スペシャルペア)、フェオフィチン(Pheo)、プラストキノン(Q_A, Q_B)などの存在が知られている (Fig.1)。暗中において非磁性分子である Yz はスペシャルペアに電子を供給すると過渡的常磁性種となるが、酸素発生中心 Mn₄ クラスターから電子を受け取り再び非磁性分子となる。そこで本研究では、ヒドロキシルアミン(NH₂OH)を用いて Mn₄ クラスターを取り除いた光化学系 II 複合体を用いることで Yz ラジカルを安定に捕捉した。

Fig.2 および Fig.3 にはそれぞれ、凍結溶液および単結晶試料中の Yz ラジカルに対して観測した ESR スペクトルを示す。測定では、まず 253K で白色光を 20 秒間照射後、光照射を行いながら 200K まで冷却した。光照射を遮断した後も、さらに測定温度(80K)まで冷却を続けることで、チロシンラジカル Yz の捕捉を行った。解析の結果、Yz ラジカルの

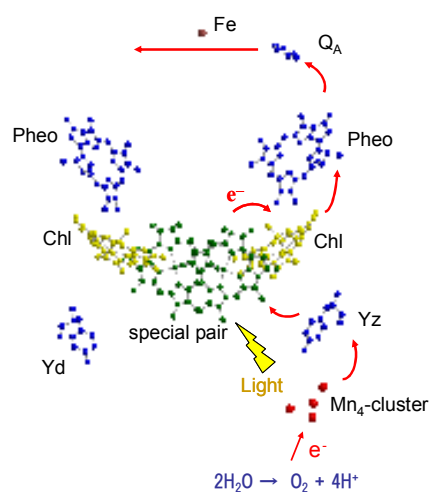


Fig.1 光化学系 II 反応中心における電子移動成分の立体配置.

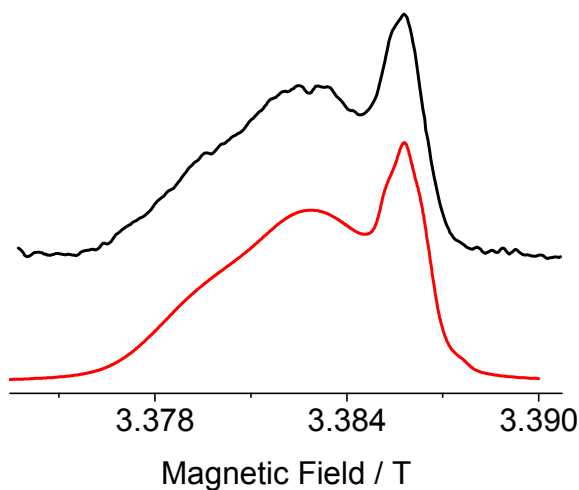


Fig. 2 光化学系 II 凍結溶液中の Y_Z ラジカルの高周波 ESR スペクトル. (a) 実測、(b) シミュレーション.

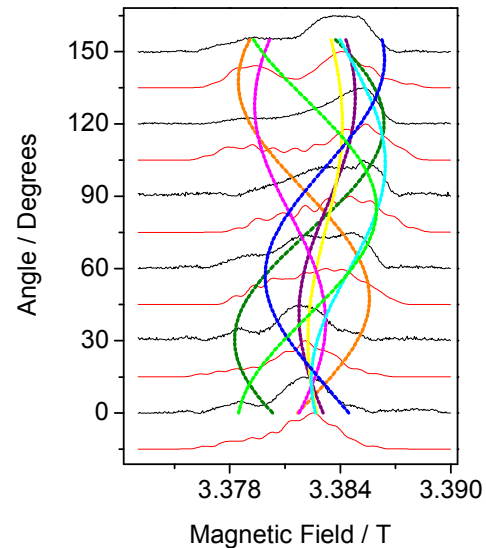


Fig. 3 単結晶光化学系 II における Y_Z ラジカルの高周波 ESR スペクトル. 黒: 実測、赤: シミュレーション.

g 値を次のように決定した: $g_x = 2.00705$, $g_y = 2.00436$, $g_z = 2.00219$.

結晶構造解析などの結果から、 Y_Z 分子は近傍の Histidine 残基と水素結合をしていることが明らかとなっている。水素結合構造からプロトン共役電子移動反応を検証するため、本研究では Y_Z ラジカルの g 値に対して DFT 計算を行った。Histidine 残基の imidazole 環は水素結合により imidazolium カチオン構造をとると仮定した DFT 計算では、最適化構造の水素結合距離が 1.60\AA 、 g_x の値は 2.00721 であった。さらに、周囲の蛋白質が及ぼす g 値への影響を調べるため、COSMO (Conductor-like Screening Model) を用いた DFT 計算も行った。その結果、最安定構造の水素結合距離は 1.69\AA 、 g_x の値は 2.0069 であり、どちらも実測をよく再現した。一方で、 Y_Z から imidazole 環への水素移動に伴って、水素結合に関与しない窒素側から水素が失われた中性の imidazole 構造を仮定した DFT 計算も行った (COSMO による周辺環境も考慮した)。得られた g_x の値は 2.0084 であり、実測を満足しなかった。その結果、 Mn_4 クラスタを取り除いた光化学系 II 反応中心では Y_Z の酸化に伴って imidazolium カチオンが生成していると結論付けられた。この結果は水分解-酸素発生反応において提唱されている Proton-Rocking Model を支持しており、 Mn_4 クラスタを取り除いた光化学系 II の実験では Y_Z 残基が水分子から水素を引抜く proton abstractor として働いていないことが示された [2]。

- [1] Yasufumi Umena, Keisuke Kawakami, Jian-Ren Shen and Nobuo Kamiya, *Nature*, **473**, 55-60 (2011).
- [2] Hideto Matsuoka, Jian-Ren Shen, Asako Kawamori, Kei Nishiyama, Yasunori Ohba, and Seigo Yamauchi, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 4655-4660 (2011).