

## 4A12

### 光合成酸素発生系の多周波 ESR 研究

(東北大多元研<sup>1</sup>, 岡山大院自然<sup>2</sup>, 分子研<sup>3</sup>)松岡秀人<sup>1</sup>, 沈建仁<sup>2</sup>, 伊東信哉<sup>1</sup>, 古川貢<sup>3</sup>, 中村敏和<sup>3</sup>, 大庭裕範<sup>1</sup>, 山内 清語<sup>1</sup>

#### Multi-Frequency ESR studies of Photosynthetic Oxygen-Evolving System

(IMRAM, Tohoku University<sup>1</sup>, Okayama University<sup>2</sup>, Institute for Molecular Science<sup>3</sup>)  
Hideto Matsuoka<sup>1</sup>, Jian-Ren Shen<sup>2</sup>, Shinya Ito<sup>1</sup>, Ko Furukawa<sup>3</sup>, Toshikazu Nakamura<sup>3</sup>, Yasunori Ohba<sup>1</sup>, Seigo Yamauchi<sup>1</sup>

**【序論】**水からの酸素発生は、光化学系 II (PSII) に存在する酸素発生中心によって触媒される。我々はこれまで電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いて、水分解-酸素発生過程におけるプロトン共役電子移動の機構について明らかにしてきた<sup>1</sup>。また最近、著者の一人(沈)は、1.9 Å の高分解能で PSII の結晶構造解析に成功し、酸素発生中心の詳細な構造を初めて明らかにした<sup>2</sup>。その結果、酸素発生中心は 4 個のマンガン、1 個のカルシウム、5 個の酸素原子から構成される歪んだ椅子型構造を持つことが明確に示された。図 1 には結晶構造解析によって明らかとなった酸素発生中心 MnCa<sub>4</sub>O<sub>5</sub> クラスターの構造を示す<sup>1</sup>。しかし、酸素発生中心は水分解反応において複数の中間酸化状態をとることが知られており、結晶構造解析で決定された構造がどの酸化状態に相当するのか、まだ明らかとなっていない。本研究ではまず、酸素発生能とクラスター構造との関係を理解するため、Ca の Sr への置換効果について、酸化状態を選別しながら電子・分子構造に関する微細な情報を得ることができる ESR 法を用いて調べた。また、これまで *T. vulcanus* 以外の種から単離・精製した PS II 複合体について、結晶構造解析ならびに ESR による研究が、世界中で行われてきたが、クラスターの電子・分子構造は種によって依存するか否かについてはあまり議論されてこなかった。本研究では ESR 法の観点から、種の違いについても調べた。

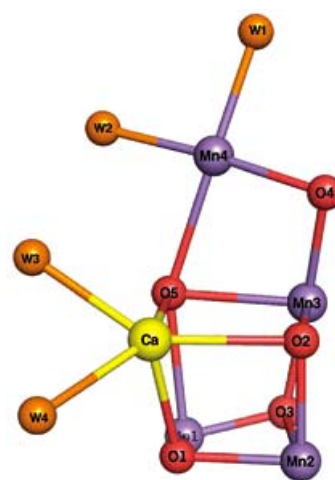


図 1 MnCa<sub>4</sub>O<sub>5</sub> の構造。

**【実験】**試料は好熱性らん藻 *Thermosynechococcus vulcanus* (*T. vulcanus*) から単離・精製した PS II 複合体を用いた。高周波 (94.9GHz) パルス ESR 測定は、マイクロ波パルスブリッジを組み込んだ Bruker 社製 ELEXSYS E600 分光器を用いて行った。また、Q-band (34GHz) パルス ESR/ENDOR 測定は Bruker 社製 ELEXSYS E680 分光器を用いた。

#### 【結果と考察】

##### a) Ca/Sr 置換の効果

Ca/Sr 置換効果を、電子・分子構造を反映する *g* 値により比較した。図 2 には PSII 凍

結溶液中の酸素発生中心に対して観測した 34GHz および 94.9GHz 帯 ESR スペクトルを示した。なお、黒は補酵素として Ca を、赤は補酵素として Sr が結合している。スペクトルシミュレーションの結果、 $g$  値を次のように決定した：

$$(Ca) \quad g_x = 1.994, g_y = 1.981, g_z = 1.967$$

$$(Sr) \quad g_x = 1.996, g_y = 1.990, g_z = 1.974$$

本測定では、 $S_2$  状態と呼ばれる参加状態のクラスターに対して測定を行った。 $S_2$  状態は Mn (III) が 1 つと Mn (IV) が 3 つから構成されると考えられている。配位子場理論から Mn (IV) イオンの  $g$  値は異方性が小さいと期待されることから、決定した  $g$  値の違いは Mn (III) イオンの配位環境の違いを反映していると考えられる。酸素発生中心の補酵素として働く Ca を、Sr に置換することで酸素発生能が半減することが知られており、Mn (III) イオンの配位環境の違いと酸素発生能との相関が示唆された。

#### a) スピン格子緩和時間の温度変化測定

各 Mn 核間に働く 6 種類の交換相互作用  $J$  は、Mn クラスターの分子構造および電子構造を直接反映したパラメータである。しかし、それらを実験的に識別して、決定することは不可能なため、本研究では基底スピン状態と励起スピン状態とのエネルギー差  $\Delta$  から間接的に交換相互作用の決定を行った。まず  $\Delta$  の決定は、スピン格子緩和時間の温度変化を測定し、それをアレニウス型 (Orbach 過程) の理論式を用いて解析することで決定した。その結果、シアノバクテリア *T. vulcanus* 由来 PSII の単結晶試料では  $\Delta = 32\text{cm}^{-1}$  と求められた。ここで得られた  $\Delta$  値を見ると、別の種のシアノバクテリア *T. elongatus* と比べて一桁大きい値であり、種による違いが示唆された。一方で、ほうれん草から単離・精製した PSII に対して決定された  $\Delta$  値は本研究で求めた *T. vulcanus* のそれと近い値であった。また、ENDOR 測定からも *T. vulcanus* とほうれん草の類似性が示唆された。

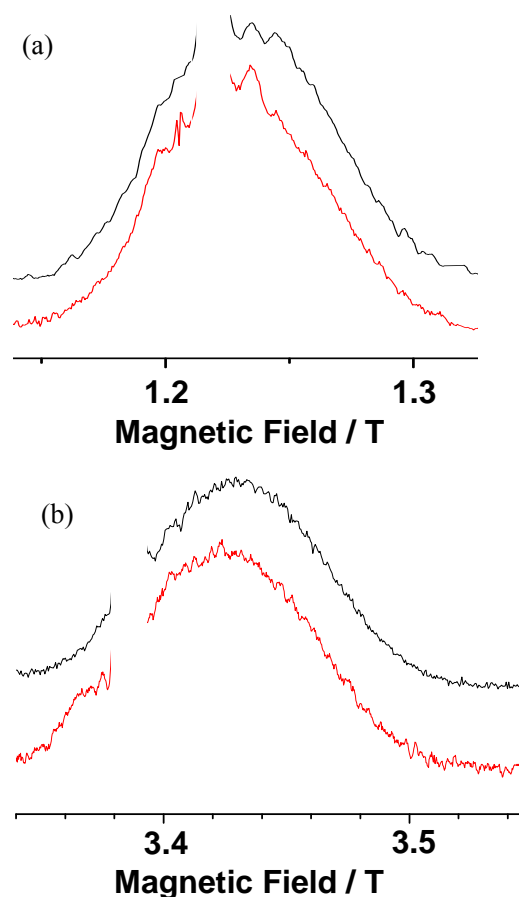


図 2 酸素発生中心の(a)34GHz および (b)94.9GHz 帯 ESR スペクトル. 青:Ca、赤: Sr.

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