

時間分解 EPR 法による光合成反応中心 の電子的相互作用解析

(静岡大理¹, シカゴ大化学², JST さきがけ³) 小堀康博^{1,3}, ノリス ジェームス²

Time-resolved EPR study on electronic coupling in the photosynthetic reaction center

(Shizuoka Univ.¹, Univ. of Chicago², PRESTO, JST³) Yasuhiro Kobori^{1,3},
James R. Norris Jr.²

【序】光合成反応中心は太陽光を利用して電子伝達を行う中間体分子を効率よく生み出し、エネルギー生産へとつなぐ重要な役割を持つ。バクテリア光合成反応中心の光励起初期過程においては、クロロフィル二量体 (P) が光エネルギーを受容する。このタンパク質複合体によるエネルギー変換の初期過程が、P に生じた励起一重項状態 ($^1P^*$) からフェオフィチン (H_L) への長距離電子移動 (図 1) である。近年 Woodbury らはこの電荷分離過程 (図 1) について、タンパク質の構造変化による応答を考慮した速度論的解析を行い、電子的相互作用が 39 cm^{-1} であると報告した¹。この解析モデルは、図 1 の電荷分離が P 近傍に位置するクロロフィル (B_L) を介した超交換機構によって進行することを前提としている。しかしながら、 $P^+ B_L^-$ 状態を経る二段階の電子ホッピングも有力な機構として考えられており、未だ光合成反応中心の初期電荷分離に関する分子機構は定かではない。そこで本研究では、バクテリア光合成反応中心 *Rhodobacter sphaeroides* R26 のキノン分子を還元し、キノンへの後続電荷シフトをブロックさせた系について初期電荷分離状態の時間分解電子スピン共鳴 (TREPR) スペクトルを観測した。交換相互作用の値から電荷再結合過程に対する電子的相互作用を決定し、初期電荷分離機構に関する知見を得た。

【実験】培養後、精製処理した *Rhodobacter sphaeroides* R26 にアスコルビン酸ナトリウム添加後、連続的

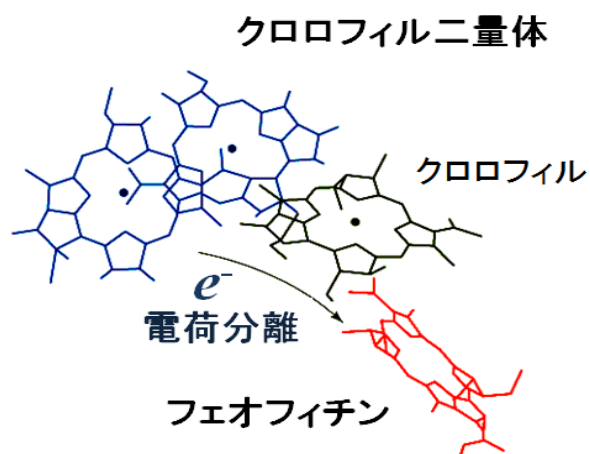


図 1. バクテリア光合成反応中心の初期電荷分離過程に関与する色素分子の配置

にレーザー照射を行いながら温度を下げ、凍結させることによってタンパク質中のキノン分子を還元状態に保ち、後続電子移動をブロックさせた。Xバンド TREPR 測定は、Bruker ER041MR により行った。Nd:YAG レーザー (SP, Quanta-Ray GCR-4) の第二高調波 532 nm を励起光源としナノ秒時間分解計測を行った。測定は 85 K で行った。

【結果と考察】図 2 a にレーザー照射後 50 ns において得られた TREPR スペクトルを示す。このスペクトルは、中心付近の A/E パターンを示す信号 (図 2 b) と、よりブロードなスペクトル (図 2 c) の重ね合わせで説明された。さらに各信号成分 (図中矢印の 322 mT 付近と 329 mT 付近) の経時変化の観測を行ったところ、前者の信号の減衰とともに後者の信号成分が立ち上がった。このことから、図 2 b のスペクトル成分は初期電荷分離状態 $P^+H_L^-$ に、図 2 c の成分はその電荷再結合で生成した励起三重項状態 $^3P^*$ にそれぞれ帰属された。

電荷分離状態 $P^+H_L^-$ の不對電子軌道の重なりによって生じる交換相互作用と電荷再結合速度定数を定量化するために、高速な電荷再結合反応が起こるラジカル対の電子スピン量子系において、量子準位分布や量子コヒーレンス発展の影響を受けたマイクロ波遷移を回転座標系の確率リュービル方程式で表し、TREPR 信号によるスペクトルとその径時変化の両者を解析した。この手法による両者のフィッティングから電荷再結合速度定数 ($k_S = 1.2 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$, $k_T = 7.5 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$) および、交換相互作用 ($2J = -1.5 \text{ mT}$) を決定した。

以上の解析結果と報告されている再配向エネルギー値などを用い、初期電荷分離状態 $P^+H_L^-$ から各電荷再結合状態 (基底状態、励起三重項状態 $^3P^*$ 、および励起一重項状態 $^1P^*$) に至る過程について、電子的相互作用をそれぞれ求めた。

〈参考文献〉

1. H. Wang, S. Lin, J. P. Allen, J. C. Williams, S. Blankert, C. Laser, N. W. Woodbury, *Science*, **316**, (2007) 747-750.

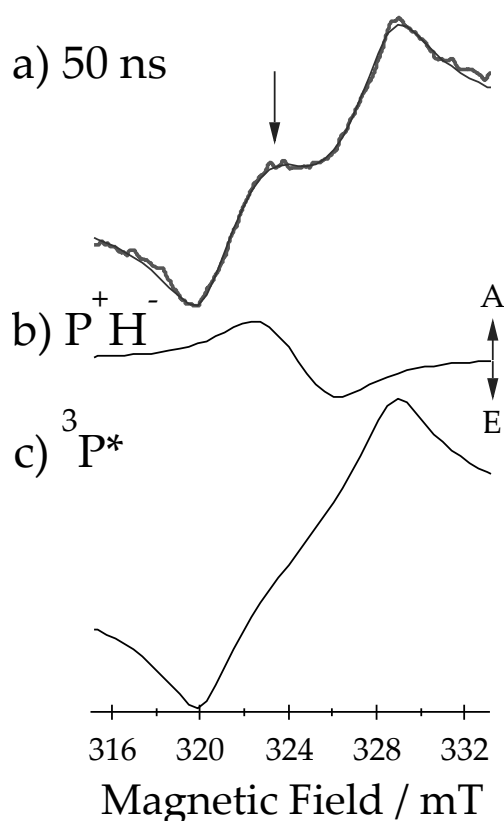


図 2. a) *Rhodobacter sphaeroides* R26 のレーザー照射後 50 ns に得られた TREPR スペクトル b) 確率リュービル方程式による解析で得られた初期電荷分離状態 $P^+H_L^-$ のスペクトル成分と、c) その三重項電荷再結合によって生成した励起三重項状態 $^3P^*$ の成分