

3A02

光合成反応中心の初期電荷分離過程に伴う 立体構造変化:時間分解 EPR 法による解析

(神戸大院理¹, シカゴ大化学²) 小堀康博¹, Nina Ponomarenko²
James R. Norris Jr.²

Time-resolved EPR study on cofactor geometries after primary charge-separation in the photosynthetic reaction center

(Kobe Univ.¹, Univ. of Chicago²) Yasuhiro Kobori¹, Nina Ponomarenko²
James R. Norris Jr.²

【序】光合成反応中心(PRC)は、クロロフィル二量体からなるスペシャルペア(P)の一重項励起状態から、複数の電子受容体に次々と電子を伝達する膜タンパク質である。紅色細菌 *Rhodobacter sphaeroides* には、色素分子であるバクテリオクロロフィル(B), バクテリオフェオフィチン(H), およびキノン分子(Q)が二回軸対称性を持った二つのブランチとしてポリペプチド鎖にバインドしているが、このうちの A 経路のみが電子伝達に使われることが古くから知られており、この原因の解明に向けて様々な基礎研究がなされてきた。A 経路では、初期電荷分離状態とよばれる $P^+H_A^-$ が効率よく生成する。近年では、この電荷分離状態の生成は、 ${}^1P^+B_AH_A \rightarrow P^+B_A^-H_A \rightarrow P^+B_AH_A^-$ による段階的電子移動機構が有力となっている。¹ 上の各電荷分離ステップにおいて、マーカス理論に基づき電子的相互作用(それぞれ、 ${}^1V_{P^+B}$ および V_{BH})² が議論されてきた (Figure 1)。例えば V_{BH} においては、 B_A の π^* 軌道と H_A のメチル基による σ^* 軌道との重なりが電子によるトンネリングのルートとして重要な役割を果たすと考えられている。³ このような光合成タンパク質による高効率な光エネルギー変換機構を解明するためには、 $P^+H_A^-$ による電荷再結合過程について、立体構造と電子的相互作用(V_{CR})を特徴付けることが極めて重要である。Michel-Beyerle ら⁴ は、 $P^+H_A^-$ による三重項電荷再結合速度の解析を行い電子的相互作用 $V_{CR,T} = 0.85 \text{ cm}^{-1}$ を報告した。しかしながら、初期電荷分離後にどのような立体構造変化が起こり、それが V_{CR} にどのような効果を与えるかについては未解明である。我々は、時間分解 EPR 法を用い、タンパク質中のキノン分子を還元処理した *Rhodobacter sphaeroides* R26 に生成する初期電荷分離状態と、その再結合過程で生成する励起三重項状態 ${}^3P^*$ の時間分解 EPR 信号を観測した。電子スピン分極の定量解析を行うことにより、 $P^+H_A^-$ 不對電子軌道の立体構造とその一重項再結合 $P^+B_AH_A^- \rightarrow {}^1P^+B_AH_A$ (遅延蛍光) に対する電子的相互作用 $V_{CR,S}$ を同時に求め、電荷分離構造が果たす電子的相互作用の役割を明らかにした。

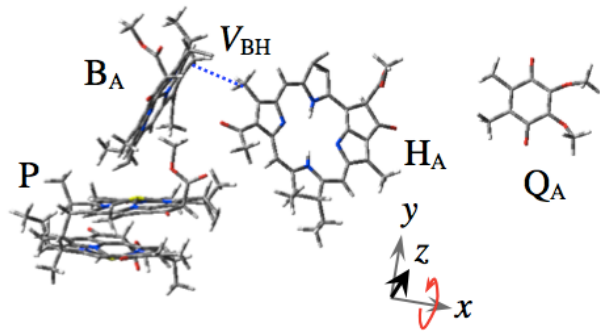


Figure 1. Ground-state geometries of the A side cofactors in *Rhodobacter sphaeroides*. x , y and z denote principal g -tensor axes in H_A^- . The dotted line shows a forward electron-tunneling route in the transfer integral, V_{BH} . Rotations of H_A^- along the x -axis after the primary CS could disrupt the route to weaken the coupling for the primary CR.

【結果と考察】 Figure 2a にレーザー照射後 50 ns 後に観測された *Rhodobacter sphaeroides* R26 の時間分解 EPR スペクトルを示す。この信号は中心付近 (Figure 2b) の A/E 型 (A はマイクロ波の吸収、E は放出を表す。) ⁵ を示す電荷分離状態 $P^+H_A^-$ と、スペクトル幅の広い A/E/E/A/A/E (Figure 2c) による励起三重項状態 $^3P^*$ の和として説明される。 $P^+H_A^-$ による電荷分離状態の立体構造と電子的相互作用を決定するために、電荷再結合を起こすラジカル対 $P^+H_A^-$ の一重項-三重項スピン系と再結合生成物である三重項スピン状態 $^3P^*$ について量子準位分布と量子コヒーレンスの発展を確率リウビル方程式で表し、 $P^+H_A^-$ および $^3P^*$ 両者について EPR 信号(横方向磁化)とその径時変化の再現を行った。量子論に基づく解析^{6,7} から、次の点が明らかになった。

1) 初期電荷分離状態 $P^+H_A^-$ の一重項-三重項(S-T₀)変換効率は、不対電子によるスピン双極子間相互作用(d)の主軸方向と、ラジカル P^+ と H_A^- が持つ超微細結合テンソルの各主軸方向(Figure

1 の x, y, z) に依存して大きな異方性を生じることから、T₀ 状態を経た再結合過程で生成する $^3P^*$ のスピン分極(Figure 2c) は $P^+H_A^-$ の立体配置に大きく依存する。

2) $P^+H_A^-$ の横方向磁化は一重項-三重項間のエネルギー差を決める交換相互作用($2J$)の大きさによって強い影響を受ける。⁵

以上の性質から、一重項および三重項電荷再結合速度をそれぞれ考慮し、初期電荷分離状態の立体配置と $2J$ をパラメータとして、 $P^+H_A^-$ および $^3P^*$ 両者の横方向磁化強度に対する外部磁場(Figure 2a)と、各磁場における遅延時間依存性(Figure 2d)を再現した。この結果、 $P^+H_A^-$ の立体配置は Figure 1 に示された基底状態の立体配置と大きな変化がないことが明らかになった。さらに電荷移動相互作用機構により、 $2J$ の値(-1.8 mT)から、 $P^+B_AH_A^- \rightarrow ^1P^+B_AH_A$ (遅延蛍光)に対する電子的相互作用 $V_{CR,S} = 2.2 \text{ cm}^{-1}$ が決定された。この相互作用エネルギーは、電荷分離後に軌道の重なりがわずかに増加したことを示しており、イオン対の生成でクーロン引力による微少な立体構造変化が起きたことが示唆される。

[文献]

- (1) Huang, L. B. et al. *P. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 4851-4856.
- (2) Tanaka, S.; Marcus, R. A. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 5031-5045.
- (3) Hasegawa, J. Y.; Nakatsuji, H. *Chem. Lett.* **2005**, *34*, 1242-1243.
- (4) Volk, M.; Michel-Beyerle, M. E. et al. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 735-751.
- (5) Till, U.; Hore, P. J. et al. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 10939-10948.
- (6) Kobori, Y.; Noji, R.; Tsuganezawa, S. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 1589-1599.
- (7) Miura, T.; Aikawa, M.; Kobori, Y. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 30-35.

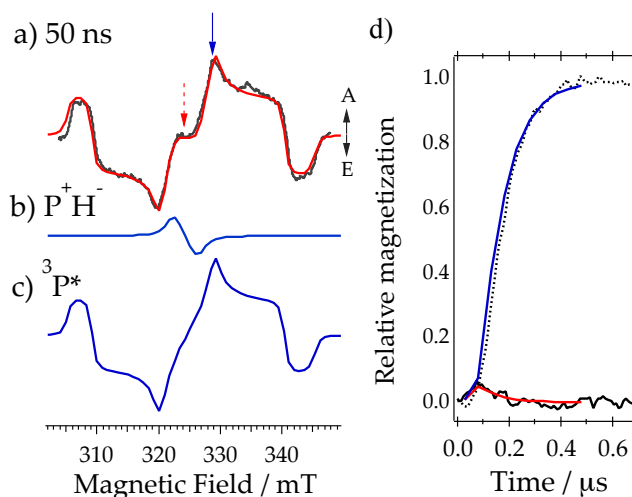


Figure 2. a) Time-resolved EPR spectrum at 50 ns after the laser excitation of the quinone-reduced PRC of the *Rhodobacter sphaeroides* R26 at 85 K. Computed spectra are displayed at 50 ns for $P^+H_A^-$ in b) and for $^3P^*$ in c) with considering the quantum mechanical dynamics of the spin systems in which the hyperfine anisotropies and the spin-selective CR kinetics are considered applying geometries in Figure 1. The red line in a) is a sum of b) and c). d) Time-profiles (black solid line and dotted line) of the transient EPR signals measured at a center field position marked by a dotted arrow and at a higher field marked by a solid arrow in a), respectively. Corresponding calculated time-traces of the relative magnetizations are shown by the red and blue lines using $2J = -1.8 \text{ mT}$.