

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05430

研究課題名（和文）高精度電子カップリング計算による光合成励起エネルギー移動の解明

研究課題名（英文）Highly accurate electronic coupling calculations for photosynthetic excitation energy transfer

研究代表者

藤本 和宏（Fujimoto, Kazuhiro）

名古屋大学・理学研究科(WPI)・特任准教授

研究者番号：00511255

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：光合成アンテナ系（LH2）に存在するバクテリオクロフィル色素の会合体（B850とB800）の励起状態を研究した。電子カップリング計算に基づくダイマーエキシトンモデルを開発し、これを用いることで、実験で観測される吸収スペクトルの赤方シフトを正確に再現することに成功した。さらに、色素構造の歪み、タンパク質の静電効果、電子カップリング、電荷移動（CT）の4つの観点からスペクトルシフトに対する寄与を系統的に解析した。その結果、B800のスペクトルシフトは主にタンパク質の静電効果によるものである一方、B850では色素間の電子カップリングとCT効果によるものであることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電子カップリング計算に基づく吸収スペクトル計算法を開発し、この手法を用いてLH2の励起状態の解析を行った。本解析により、LH2の吸収スペクトルが電子カップリングやCTの効果によって大きく赤方シフトすることが定量的に明らかになった。先行研究でもこれらの効果の重要性が示唆されていたが、スペクトルシフト全体に対する各効果の寄与を定量的に議論したものは本研究が初めてである。同様の解析は他の系にも適用可能であり、今後さらなる発展が期待される。また、本研究ではタンパク質中の色素によるスペクトルチューニングの多様性を示すことにも成功した。ここで得られた知見は様々な分子系の光物性解析に活用される可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We investigated the excited states of bacteriochlorophyll aggregates, B850 and B800, in the photosynthetic antenna system called LH2. To accurately understand the observed redshifts in the absorption spectra, we developed a dimer exciton model based on electronic coupling calculations. This model successfully reproduced the experimental results. Furthermore, we conducted a systematic analysis to determine the contributions to the spectral shift from four perspectives: distortion in bacteriochlorophyll structure, protein electrostatic effect, electronic coupling, and charge transfer (CT). Our findings revealed that the spectral redshift in B800 primarily arises from the protein electrostatic effect, whereas, in B850, it is influenced by both the electronic coupling and CT effects between the bacteriochlorophylls.

研究分野：物理化学

キーワード：量子化学 理論化学 エキシトン 励起状態 電子状態 励起エネルギー移動 光合成 電子カップリング

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

励起エネルギー移動 (EET) は、分子ペアや分子集合体内で起こる現象であり、光合成などの生体内光反応において重要な役割を果たしている。光合成系では、ポルフィリンやカロテノイドの類似体によって光を集めるアンテナが構成されているが、その EET 機構は未解明な部分が多く残されている。光合成 EET 機構の理解は、高効率な太陽電池の開発にも役立つと考えられている。EET に関する理論研究は古くから行われており、1948 年のフェルスター理論の提案以降、数多くの研究が進められてきた。しかしながら、これまでの研究の多くは、フェルスター理論が適用可能な系に限定されていた。フェルスター理論では、EET 速度定数の計算に必要な電子カップリング (ドナー・アクセプター分子間の光励起や脱励起に関わる電子的相互作用) を求める際に、双極子・双極子 (DD) 近似が用いられる。しかし、DD 近似は分子サイズよりもドナーとアクセプターとの間の距離が大きい場合にしか適用できず、分子間距離が近い系には対応できない。この問題は色素間の距離が近い光合成アンテナ系 (LH2) にも当てはまると考えられるが、現在でも LH2 の電子カップリング計算には DD 近似が使用されている。電子カップリング計算の精度は EET 速度定数に直接影響を与えるため、DD 近似を超える計算法が EET の理論研究には必要不可欠である。このような問題を解決するため、私は TDFI 法と TrESP-CDQ 法という 2 つの計算法を考案した。TDFI 法では、ドナーとアクセプター分子の遷移密度を利用し、TrESP-CDQ 法では、各原子の遷移電荷、遷移双極子、および遷移四極子を使用して電子カップリングを求める。これにより、DD 近似が適用できない系に対しても、TDFI 法と TrESP-CDQ 法は高い精度で電子カップリングを計算することが可能となり、EET 研究の範囲を大幅に拡大した。

## 2. 研究の目的

これまでに私が開発してきた電子カップリングの計算手法を更に発展させること、そして開発した計算手法により光合成の集光アンテナに関する EET 機構を明らかにすること、を本研究の目的とした。

### (1) 電子カップリング計算法を用いた大規模励起状態計算と励起状態の解析法の開発

これまでに私の開発した電子カップリング計算法とエキシトン理論を組み合わせた励起状態計算法の開発を目指した。さらに得られた励起状態に対するエネルギー分割解析法の開発を目指した。

### (2) 光合成アンテナ系 (LH2) の励起状態の解析

今回新たに開発した励起状態計算法を光合成の集光アンテナの一種である LH2 へ適用することで、EET の分子機構の解明を目指した。また、新たに開発したエネルギー分割解析法の適用により、LH2 の励起状態に潜む物理化学的な特徴を解明することを目指した。

## 3. 研究の方法

本研究では、電子カップリング計算を用いた吸収スペクトル計算法や励起状態解析法の開発、およびそれらの手法の適用による LH2 の励起状態の解析を試みた。

(1) LH2 に対して細胞膜環境下における分子動力学 (MD) 計算を実施し、そこから得られた構造に対して QM (量子力学) / MM (分子力学) 法を用いた構造最適化計算を実施した。LH2 には 27 個のバクテリオクロロフィル色素が含まれるが、これらの色素を同時に最適化することは計算コスト上、非常に困難である。そこで、1 つの色素のみを QM 領域として取り扱う構造最適化計算 (その他の原子は MM 領域) を 27 個それぞれの色素に対して実施することで、LH2 全体の最適化構造を構築した。

(2) 電子カップリング計算を用いて系全体のハミルトニアン行列を構築し、そこから系全体の吸収スペクトルを求めることを試みた。また、バクテリオクロロフィル色素 2 量体を一つのフラグメントとして取り扱う特殊なエキシトン計算 (ダイマーエキシトンモデル) も試みた。

(3) 上記で開発した手法を LH2 に適用することで、LH2 中に存在する B800 と B850 (多数のバクテリオクロロフィル色素から構成される環状会合体) における特殊な吸収スペクトルの再現を試みた。また、これらの吸収スペクトルに対するエネルギー分割解析を行うことで、B800 と B850 におけるスペクトルチューニングの物理化学的起源の解明を試みた。

## 4. 研究成果

### (1) 光合成アンテナ LH2 のスペクトルチューニング機構の解明

LH2 内のバクテリオクロロフィル会合体 (B850 と B800) の励起状態を、我々が独自に開発し

たダイマーエキシトンモデルの使用により理論的に解析した。分子の二量体を一つのフラグメントと捉えるダイマーエキシトンモデルは、バクテリオクロロフィルの凝集に起因する B800 と B850 の実験吸収スペクトルの赤方シフトを正確に再現することが示された。さらに我々は 4 つの観点（バクテリオクロロフィルの構造的な歪み、タンパク質の静電効果、電子カップリング効果、電荷移動（CT）効果）からスペクトルシフトのエネルギーを定量的に分割し、スペクトルの系統的な解析を行った（図 1）。その結果、B800 のスペクトルシフトは主にタンパク質環境からの静電的相互作用に起因し、一方、B850 のスペクトルシフトはバクテリオクロロフィル間の電子カップリングに起因することが明らかとなった。また、B850 の赤方シフトには、バクテリオクロロフィル間の CT 効果も重要な役割を果たすことも明らかとなった。この CT 効果は、我々のダイマーエキシトンモデルを使用することで効果的に記述することが可能となった。さらなる解析から、B850 における顕著な CT 効果はバクテリオクロロフィルが近接して配置されていることに起因することが明らかになった。また本研究では、吸収スペクトルの正確な予測には、量子化学計算による結晶構造の構造最適化が極めて重要であることも示された。

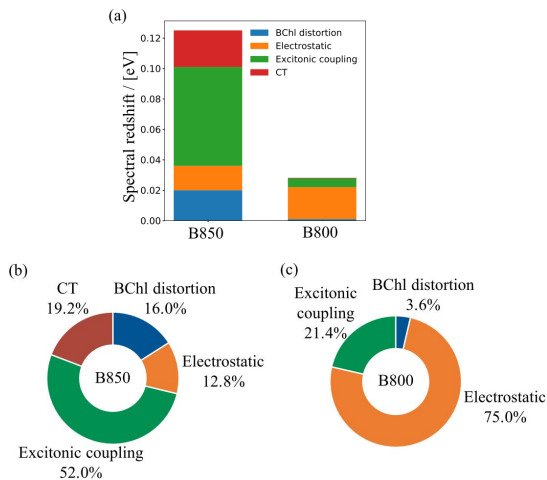


図 1. B850とB800のスペクトルシフトに対する各効果の寄与。

## (2) 人工蛍光色素 A647 と LH2 との間の FRET 配向因子の算出

本研究では、LH2 と人工蛍光色素（Alexa Fluor 647 : A647）との間における蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）の配向因子を理論的に検討した。FRET 速度の測定からドナー・アクセプター間距離を予測する際には、一般的に配向因子の値として等方平均値である  $2/3$  が使用される。しかしながら、リンカーを介して LH2 と共有結合した A647 の動きは大きく制約される可能性があるため、配向因子としての等方平均値の使用は不適切だと考えられる。そこで本研究では、LH2-A647 複合体に対する MD 計算と電子カップリング計算を行うことで、この配向因子の値を解析した。MD 計算の結果から、LH2 中の B850 から約  $26\text{\AA}$  離れたところに A647 は位置していることが明らかとなった。本研究では遷移電荷を用いた電子カップリング計算法（TrESP）から配向因子を算出する方法も提案された。MD トラジェクトリから配向因子を算出したところ 1.55 という値が得られ、これは等方平均値である  $2/3 (=0.667)$  とは大きく異なることが示された。また、先行研究で使用されていた屈折率の値は、この系には適切ではない可能性が示唆された。さらに本研究ではオイラー角を用いた A647 の配向探索が実施され、FRET 効率を向上が試みられた。本研究で提案されたアプローチは、FRET 解析の適用範囲を広げる上で有用であると考えられる。

## (3) 錐体視物質 MG のスペクトルチューニング機構の解明、および LH2 との比較

サルの緑色錐体視物質（MG）はユニークな Cl イオン結合部位を持つことが知られているが、Cl イオン結合による吸収スペクトルの赤方シフトの分子機構は未解明である。そこで我々は MG タンパク質の構造モデリングと量子化学計算を行うことで、Cl イオン存在下におけるスペクトルシフトの物理化学的な要因を調査した。構造モデリングの結果、先行実験により示唆されていた構造変化を反映したタンパク質構造を得ることに成功した。この構造変化を AlphaFold2 で予測することはできなかった。続いて励起状態計算を行ったところ、実験結果と同様の赤方シフトした吸収エネルギーを再現することに成功し、本研究で構築したタンパク質構造の妥当性を示すことができた。静電エネルギー分析の結果、赤方シフトは His197 のプロトン化状態の変化、および Glu129、Ser202、Ala308 のコンフォメーション変化に起因しているが、Cl イオン自身は直接的には青方シフトに寄与していることが予測された。さらに変異導入実験の実施により、これらの計算予測の妥当性が示された。本研究により、MG のスペクトルシフトはレチナール色素を取り囲むタンパク質からの静電効果に起因することが示された。また、このスペクトルチューニングは LH2 の B850 とは全く異なる物理化学的機構によって行われていることが明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 FUJIMOTO Kazuhiro J., MINODA Takumi, YANAI Takeshi	4. 巻 125
2. 論文標題 Spectral Tuning Mechanism of Photosynthetic Light-Harvesting Complex II Revealed by Ab Initio Dimer Exciton Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 10459-10470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.1c04457	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 FUJIMOTO Kazuhiro J.	4. 巻 8
2. 論文標題 Electronic Couplings and Electrostatic Interactions Behind the Light Absorption of Retinal Proteins	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	6. 最初と最後の頁 752700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2021.752700	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 藤本和宏	4. 巻 74
2. 論文標題 高精度電子カップリング計算で迫る生体分子系の光学特性	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 化学と工業	6. 最初と最後の頁 585-587
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujimoto Kazuhiro J., Inoue Keiichi	4. 巻 153
2. 論文標題 Excitonic coupling effect on the circular dichroism spectrum of sodium-pumping rhodopsin KR2	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 045101 ~ 045101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0013642	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kusano Shuhei, Ichikura Yuma, Fujimoto Kazuhiro J., Konishi Sae, Yamada Yuji, Hayashida Osamu	4. 巻 49
2. 論文標題 Exciton-coupled Circular Dichroism-based Glucose and Galactose Selective Sensing in Aqueous Media with an Anthracene-appended Benzoxaborole Dimer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 764 ~ 767
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.200244	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto Kazuhiro J., Miyashita Tomoya, Dewa Takehisa, Yanai Takeshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Determination of FRET orientation factor between artificial fluorophore and photosynthetic light-harvesting 2 complex (LH2)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15091
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-19375-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto Kazuhiro J., Minami Shota, Yanai Takeshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Machine-Learning- and Knowledge-Based Scoring Functions Incorporating Ligand and Protein Fingerprints	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 19030 ~ 19039
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.2c02822	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto Kazuhiro J., Minowa Fumika, Nishina Michiya, Nakamura Shunta, Ohashi Sayaka, Katayama Kota, Kandori Hideki, Yanai Takeshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Molecular Mechanism of Spectral Tuning by Chloride Binding in Monkey Green Sensitive Visual Pigment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1784 ~ 1793
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.2c03619	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤本和宏
2. 発表標題 高精度電子カップリング計算で迫る生体分子系の光学特性
3. 学会等名 研究会「化学反応のポテンシャル曲面とダイナミックス」（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------