

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 24 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：21750004

研究課題名 (和文) 高時間分解・高周波電子スピン共鳴分光法による生体内光電変換ダイナミクスの解明

研究課題名 (英文) Dynamics of photoelectric conversion in biological system as studied by high time resolution and high frequency EPR

研究代表者

松岡 秀人 (MATSUOKA HIDETO)

東北大学・多元物質科学研究所・助教

研究者番号：90414002

研究成果の概要 (和文)：本研究では、シアノバクテリアから抽出・精製した光化学系 I を対象に、超高時間分解高周波時間分解 ESR 実験を行った。二成分の ESR スペクトルを観測し、その時間依存性と信号強度比から、二経路の速度比などダイナミクスに関する情報を明らかにした。光化学系 I の電子移動経路については単方向性と双方向性の二つが提唱されてきたが、本研究から双方向性の電子移動が妥当であると結論付けられた。

研究成果の概要 (英文)：In this work, high time resolution and high frequency ESR experiments were performed for Photosystem I (PSI) from the deuterated cyanobacterium *Synechococcus lividus*. Spin dynamics were measured by monitoring the electron spin echo signals with different delay times after the laser flash (DAF). Assuming a weakly interacting spin-correlated radical pair, the kinetic curve can be almost fit with two time constants, indicating that the spin dynamics involve two kinds of radical pairs in PSI. It was concluded that bidirectional electron transfer occurs in PSI.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学、物理化学

キーワード：光合成膜タンパク・光化学系 I・電子伝達経路・高周波パルス時間分解 ESR

1. 研究開始当初の背景

天然・人工問わず、光電変換システムの仕組みを分子レベルで理解することは、より高効率な光電変換デバイスの創生に向けて不可欠である。最近、本研究で注目する光合成反応中心のひとつ光化学系 I 複合体の結晶構造が明らかにされた。光化学系 I における電子移動は、光励起されたクロロフィルダイマー P₇₀₀ からクロロフィルモノマー A₀ へ、さらに

フィロキノン A₁ へと進行すると理解されている。光化学系 I における電子移動について、従来疑似 2 回回転対称軸で関連付けられる 2 つの電子伝達系のうち、一方しか電子が流れないと考えられてきた。しかし、最近その対称構造の両方で電子移動が起こることを支持する実験結果が出始めており、多くの議論がなされている。

2. 研究の目的

本研究では、生物が獲得した最も巧みな光電変換システムといえる光合成膜蛋白を取り上げ、光合成初期過程における励起電子の生成および電荷分離過程について、そのダイナミクスの解明を目指す。実験としては、最新の高周波電子スピン共鳴 (ESR: Electron Spin Resonance) 分光器を用い、その超高時間分解能化を図ることで、光電荷分離過程で生じるドナー・アクセプター (イオン対) の構造および電子移動ダイナミクスを明らかにする。光電荷分離過程において生じるドナー・アクセプター (イオン対) に対して ESR 分光法は、その識別・同定ならびに、電子・分子構造の解明を可能とする数少ない物理化学測定手法である。申請者がこれまでの研究において培ってきた高周波 ESR に関するノウハウを集約し、光合成初期過程の分子論的理解を深めていくことを目的とする。

3. 研究の方法

好熱性シアノバクテリア *synechococcus lividus* から抽出・精製した光化学系 I 反応中心を対象に、光化学系 I における電子伝達経路の解明を行う。具体的には、電荷分離の過程で生じるイオン対の量子コヒーレンス (S-T 混合状態) を超高時間分解・高周波 95GHz 帯 ESR により観測する。広帯域増幅器の導入およびデータ処理系の改良を行い、ESR 装置の高速化を図る。具体的には、これまで使用していた 20 倍の広帯域増幅器を ESR 装置に導入するとともに、従来の倍速のサンプリング速度および倍の帯域を有する A/D コンバータを導入する。そして、制御とデータの取り込みを可能とする自作のプログラムを作成することで、1ns の速い ESR 応答信号を取り込むことを可能とし、レーザー照射直後のスピンドイナミクスを観測することで、イオン対の構造とダイナミクスを分

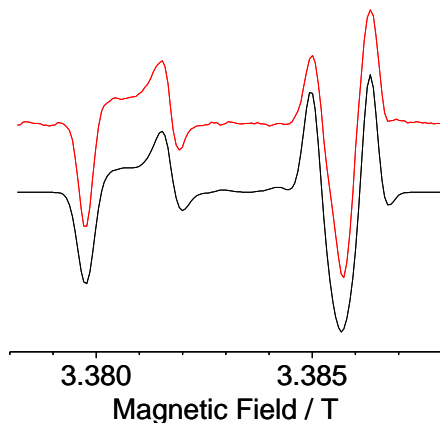


図1 光励起後 100 ns 後に観測したラジカルペア $P_{700}^+-A_1^-$ の過渡的 W-band EPR スペクトル (100 K, 532 nm 励起)。(a)実測、(b)シミュレーション。

子論的に明らかにする。

4. 研究成果

図 1(a)にはラジカルペア $P_{700}^+-A_1^-$ に対して 100K で観測した時間分解 W-band パルス EPR スペクトルを示す。これまでの報告によるとラジカルペア $P_{700}^+-A_1^-$ は低温領域において 200 μ s 程度の時定数で減衰する成分に加えて、数マイクロ秒程減衰する成分の存在が示唆されている。しかし、図 1(b)に示したとおり、100K で観測された EPR スペクトルは 1 成分のラジカルペアを仮定することで、ほぼ実測を再現することができた。

しかし一方で、図 2b に示すように、EPR 信号の時間依存性 (丸印) は、一種類のラジカルイオンペアを仮定したシミュレーション (実線) では再現することができず、もうひとつ配向の異なるラジカルイオンペアの存在を示唆した。なおフィッティングは、再結合過程とスピン格子緩和の速度定数に依存した 2 種類の時定数を考慮することで行った (図 2b) :

$$\text{Intensity} = A_1 \exp\left(-t/\tau_1\right) + A_2 \exp\left(-t/\tau_2\right)$$

$$\frac{1}{\tau_1} = \frac{ks}{4} + \frac{1}{T_1} - \frac{1}{2} \sqrt{\left(\frac{1}{T_1}\right)^2 + \left(\frac{ks}{4}\right)^2} \quad (\tau_1 = 600 \mu\text{s})$$

$$\frac{1}{\tau_2} = \frac{ks}{4} + \frac{1}{T_1} + \frac{1}{2} \sqrt{\left(\frac{1}{T_1}\right)^2 + \left(\frac{ks}{4}\right)^2} \quad (\tau_2 = 80 \mu\text{s})$$

図 2b では新たに 8 μ s の時定数を持つ指数関数をもうひとつ加えることで、実測を再現することができた。この事実を詳細に検討するため、化学還元処理前後での EPR スペクトルの比較を行った。図 3 は、化学還元処理前後でスペクトルの変化を示している。還元処理後の EPR 信号の時間依存性を測定したところ、およそ 8 μ s で減衰することがわかった。

この減衰時間は、図 2 の解析で、新たに加えた第三の寿命と良い一致を示していた。これは化学還元処理により、より長い寿命をもつラジカルイオン対の電子移動がブロックされたため、短い寿命のラジカルイオン対の EPR 信号のみが観測されたと考えられることで説明できる。化学還元処理前後のスペクトルは、X 線結晶構造解析の結果と比較したところ、それぞれ異なる二つの電子移動経路をそれぞれ経由して生成したラジカルイオン対由来であることがわかった。これより、還元処理前の試料で観測された短寿命ラジカルイオン対は、還元処理後に顕著となったものと同じであり、二つの電子移動経路を利用していることが結論付けられた。

光化学系 I の電子移動経路については、長

年世界中で議論されてきたが、本研究により双方向性が実証された。

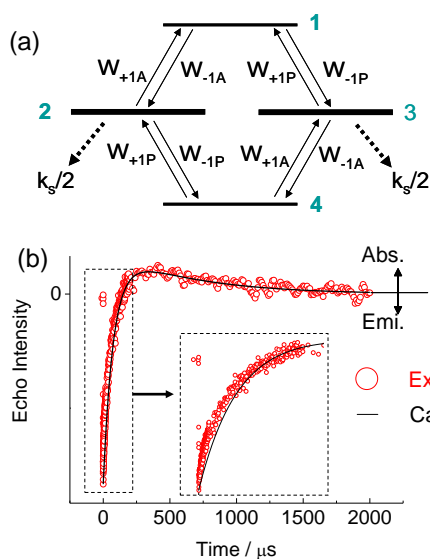


図 2 (a)ラジカルイオンペアのエネルギー準位と kinetics モデル. (b) 100K, 3.38T 付近で観測した EPR 信号強度の時間依存性.

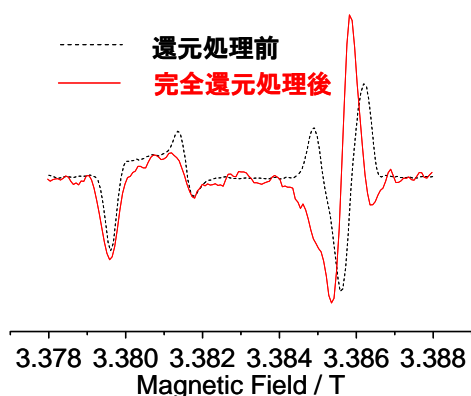


図3 化学還元処理前後でのラジカルイオンペアの EPR スペクトル.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

① Hideto Matsuoka, Jian-Ren Shen, Asako Kawamori, Kei Nishiyama, Yasunori Ohba, and Seigo Yamauchi, “Proton-Coupled Electron-Transfer Processes in Photosystem II Probed by Highly Resolved *g*-Anisotropy of Redox-Active Tyrosine Y_Z ”, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 4655-4660 (査読有) .

② Seigo Yamauchi, Mana Tanabe, Katsunori Takahashi, Saiful Islam, Hideto Matsuoka, and Yasunori Ohba, “Shifts of *g* Values in the Excited Triplet States of Metal Complexes Studied by Time-Resolved W-band EPR”, *Appl.*

Magn. Reson., **2010**, *37*, 317-323 (査読有) .

③ 松岡秀人, スピンを通して見る光合成蛋白質の構造と機能, 化学と工業, **2010**, *63*, 718-719 (査読有) .

④ Hideto Matsuoka, Shinji Sekiguchi, Kiyoshi Nishizawa, and Toshinori Suzuki, “Mid-infrared Extinction Spectra of Sub-Micron Carbohydrate Particles Generated by a Pneumatic Atomizer.”, *J. Phys. Chem. A*, **2009**, *113*, 4686-4690 (査読有) .

⑤ Hideto Matsuoka, Shinji Sekiguchi, Naoto Yagi, Katsuaki Inoue, Noboru Ohta, and Toshinori Suzuki, “Pneumatic Atomization of Liquid Water and Characterization of Submicron-Sized Droplets by Fourier Transform Infrared Spectroscopy”, *J. Phys. Chem. C*, **2009**, *113*, 14110-14113 (査読有) .

[学会発表] (計 7 件)

① 松岡秀人, 光化学系 II におけるプロトン共役電子移動の高周波 ESR 研究, 阪大蛋白質セミナー「分子科学と生理学が解き明かす植物の光エネルギー変換の新展開」, 2011 年 3 月 10 日, 大阪大学 (大阪)

② 松岡秀人, 単結晶光化学系 II 複合体におけるチロシンラジカルの高周波パルス EPR 研究, 第 49 回電子スピンサイエンス学会年会, 2010 年 11 月 12 日, 名古屋大学 (愛知県)

③ Hideto Matsuoka, Lisa Utschig, Oleg Poluektov, Ernst Ohemes, Yasunori Ohba, Marion, C. Thurnautuer, Gerd Kothe, and Seigo Yamauchi, “W-band CW and Pulse EPR Studies of Photosystem I Reaction Center”, Asia-Pacific EPR/ESR Symposium, 2010 年 10 月 14 日, International Convention Center (Jeju, 韓国)

④ 松岡秀人, 高周波 ESR による光合成電子伝達系のスピンドイナミクス, 化学系学協会東北大会, 2010 年 9 月 25 日, 岩手大学 (岩手県)

⑤ 松岡秀人, 高周波 CW/パルス EPR を用いた光合成光化学系 I における初期電荷分離過程の解明, 第 4 回分子科学討論会, 2010 年 9 月 17 日, 大阪大学 (大阪府)

⑥ Hideto Matsuoka, High frequency pulse EPR study of the oxygen-evolving Mn cluster and tyrosine radicals in photosynthetic protein, IV Russian-Japanese Workshop “Open Shell Compounds and Molecular Spin Devices”, 2010

年 9 月 6 日, Novgorod (ロシア)

⑦松岡秀人, 光化学系 I 複合体の高周波 CW/
パルス ESR 研究, 第 48 回電子スピンサイエ
ンス学会年会, 2009 年 11 月 10 日, 神戸大学
(兵庫県)

〔図書〕 (計 1 件)

Takeji Takui, Hideto Matsuoka, Ko Furukawa,
Shigeaki Nakazawa, Kazunobu Sato, Daisuke
Shiomi, Kluwer Academic Publishers, EPR
of Free Radicals in Solids; Trends in Methods
and Applications, 印刷中.

6. 研究組織

(1)研究代表者

松岡 秀人 (MATSUOKA HIDETO)
東北大学・多元物質科学研究所・助教
研究者番号: 90414002