

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22740276

研究課題名(和文)超高速コヒーレント分光で検証可能な励起エネルギー移動の包括的理論

研究課題名(英文)comprehensive theory of excitation energy transfer verifiable by ultrafast coherent spectroscopies

研究代表者

斉藤 圭亮(Saito, Keisuke)

大阪大学・理学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20514516

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：植物や藻類の行う光合成では、蛋白質に埋め込まれた色素が光のエネルギーを集め、そのエネルギーを効率よく伝達している。そのエネルギーは電子移動やプロトン移動を引き起こすことに使われ、水の分解・酸素発生反応を実現している。反応のしくみを明らかにするためには、実験的にだけでなく、理論的に(計算機を用いるなどして計算することによって)アプローチすることも不可欠である。本研究では、実験結果をうまく説明できる理論を構築し、光合成蛋白質においてエネルギー伝達・電子移動・プロトン移動が起こるしくみの一端を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In photosynthesis of higher plants and algae, light energy is efficiently collected and transferred by pigments embedded in the protein. The light energy induces the electron and the proton transfers which promote the water-splitting and the oxygen-evolving reaction. To clarify the mechanism of such a reaction, we need to use not only experimental but also theoretical approaches. In this study, we constructed a theory that well describes experimental results, and explained a part of mechanisms of the energy, the electron and the proton transfers in the photosynthetic protein.

研究分野：物理学

科研費の分科・細目：生物物理・化学物理

キーワード：光合成 蛋白質 非線形光学分光 クロロフィル 電子移動 プロトン移動 水素結合 構造ゆがみ

1. 研究開始当初の背景

光合成を司るのはアンテナ系もしくは反応中心と呼ばれる複数の色素が埋め込まれた蛋白質群である。アンテナ系で捕集された色素の励起エネルギーは色素間を効率的に移動し、反応中心において電気エネルギーとして初期固定される。なぜ励起が効率的に移動するのかを理解することは、生物物理学的な興味だけでなく、工学における応用上においても重要な課題である。

励起移動の効率(速さ・収率)は蛋白質および色素の配置に強く依存する。生体ではこれらの配置が最適化されていると考えられている。最近、実験的に光合成蛋白質中の色素配置を改変したり、蛋白質自身を任意に配置したりして、励起移動の様子を観測できるようになった。このような実験技術は、色素配置と励起移動の効率との関係を直接調べる手段を与える。光合成蛋白質における効率的な励起移動とエネルギー固定の機構の解明には、このような実験結果を正しく解釈するための理論的考察が不可欠である。

2. 研究の目的

励起移動の様子を実験的に観測するにはコヒーレント分光をはじめとする分光光学実験が有用である。これらの分光光学実験で得られた結果を理論的に解析すれば、光合成における効率的な励起移動・エネルギー固定の仕組みを明らかにすることができると考えられる。本研究はこれを目的として下記の理論的課題を解決する。

(1) 非線形光学分光は励起移動現象を実験的に検証する手段として広く用いられており、その結果を解釈する理論も確立している。しかし、もともと生体分子に使われることを想定していないため、従来の理論では光合成蛋白質内で起こる現象を正しく記述できない部分がある。この問題を克服するため、従来の理論における問題点を明確化し、必要な修正・拡張を行う。

(2) 光合成蛋白質において励起移動は主にクロロフィル色素(Chl)間で起こる。Chlは蛋白質内に多数埋め込まれているが、ひとつひとつのChl毎に性質が異なっている。個々のChlの性質が異なるために、ある方向への励起移動は起こりやすく、また別の方向への励起移動は起こりにくくなっている。このように、光合成生物は、蛋白質内のChlの性質を適切に変化させることによって励起移動の方向を規定し、その結果、エネルギーを効率的に捕集・伝達することを可能としている。しかし、どのようにしてChl毎にその性質を制御しているのかはよくわかっていない。それを明らかにする。

(3) 励起移動後に起こる電子移動・プロトン移動過程は光合成のエネルギー初期固定において重要な過程である。特に蛋白質内部で起こる電子移動やプロトン移動過程にはどのような特徴があるのであろうか。その仕組みを明

らかにする。

(4) 植物や藻類の行う光合成は酸素発生を伴う。その酸素発生を担っているのが光化学系II蛋白質である。光化学系IIでは励起移動によって伝達されたエネルギーは電子移動により酸化力に変換され、最終的にこの酸化力により水分解・酸素発生反応が駆動される。その反応を触媒するのがマンガンクラスターである。その触媒機能がどのように生み出されているのかを調べる。

3. 研究の方法

当初、研究代表者の所属する研究室は分光光学実験の研究室であった。そのため、得られた分光光学実験の結果を解析することを主な研究方法とした。そこでは、従来の分光光学の理論式を解析的に修正・拡張し、それにより得られた式に基づいて数値的計算を行った。

ところが、研究代表者は研究期間の途中から研究室を移り、蛋白質構造に基づく計算科学的手法を利用できる環境を得た。それと時を同じくして、光合成蛋白質の一つで、水分解・酸素発生という重要な機能を担う光化学系IIの詳細な分子構造が発表された。このことは非常に画期的なことであった。したがって、当初の計画において想定されていた内容に比べて、より科学的意義の大きな成果が得られることが期待されたため、この光化学系II蛋白質を研究対象とする具体的な系として中心に据え、計算機を用いた量子科学計算によって蛋白質中の色素固有の性質を調べることも行った。

4. 研究成果

(1) 非線形光学分光の理論研究

電場変調吸収分光は定常状態の非線形光学分光の一つである。この分光実験に関して理論的基礎付けを行った。従来の2つの別理論が実は同一であり、共通の枠組みで記述できることを明らかにした。さらに、従来理論のひとつについてより適用範囲の広い新しい表式を得た[論文]

四光波混合分光は物質の状態の時間的な変化を調べるために使われる非線形光学分光である。この分光法に関して、電子状態間のコヒーレントな結合と、電子と振動の相互作用の高次効果を考慮に入れた理論を開発した。この理論を光合成色素のひとつであるカロテノイドに適用し、カロテノイドの特異な性質を明らかにした[論文]。

(2) 蛋白質中のクロロフィル(Chl)の性質

高等植物や藻類で水分解を行う光合成蛋白質には光化学系Iと系IIがある。系IIは水を分解する機能を持つ蛋白質であるが、水分解を触媒する活性部位の分子構造がずっと不明であった。ところが平成23年度に活性部位の詳細な分子構造を含む高解像度(1.9Å)の構造が解明され、

大いに注目を集めた。この蛋白質には多数の Chl が含まれており、新しい構造ではその詳細な分子構造も明らかにされた。この新しい構造を利用して、特定の Chl の性質がどのように決められているのかを調べた。その結果、系 II では Chl の周囲の蛋白質環境のうち特定のアミノ酸残基が静電的相互作用を通じて Chl の性質を決定していることが明らかになった [論文]。一方、系 I では系 II とは対照的に、蛋白質環境というよりもむしろ Chl 自身の分子構造がその性質を決めていた [論文]。

Chl は蛋白質内に多数埋め込まれているが、ひとつひとつの Chl 毎に性質が異なっている。その原因のひとつとして Chl 自身のゆがみが考えられる。実際、蛋白質中の Chl 分子はゆがんでおり、その形はそれぞれに少しずつ異なっている。そのゆがみを定量的に調べた [論文]。その結果、光化学系 II では Chl の形(ゆがみ方)は色素毎に大きく異なっていた、例えば、中心部分にある二量体 Chl では 2 つの色素が対称的に配置されているにもかかわらず、それぞれのゆがみの形は異なっていた。また、光を集めるためのアンテナ系にある Chl は、水分解を行う反応中心の Chl とはゆがみ方が異なっていた。この違いはアンテナ系の役割(光捕集と励起移動)と反応中心の役割との違いに起因すると考えられる。さらに、系 II 反応中心の Chl ゆがみは、共通の祖先を持つ紅色光合成細菌の反応中心のそれと類似していた。なお、電子移動の性質を決めている酸化還元電位とゆがみとはほとんど関係ない。

(3) 蛋白質中のプロトン移動・電子移動

蛋白質内でのプロトン移動では水素結合が重要な役割を演じていることを光受容蛋白質 Photoactive Yellow Protein [論文] とバクテリオロドプシン [論文] を例に示した。

系 II における電子移動の終着点はキノンである。このキノン還元はプロトン移動と電子移動が共役して起こっていることがわかった [論文]。

系 II に存在する TyrD と呼ばれるチロシンアミノ酸残基はプロトンを放出する性質を持っている。このプロトン放出に伴うプロトン移動の機構を明らかにした。プロトンは蛋白質が作る美しい水素結合ネットワークの中を、まるで玉突きのような機構により協奏的に移動する [論文]。

(4) マンガンクラスターの構造

マンガンクラスターは椅子のような構造をしているが、普通の椅子の形とは異なりいびつにゆがんでいる。このゆがみこそ水分解という機能を発揮するのに重要であると考えられているが、その理由は不明であった。こ

れを明らかにした。ゆがみの原因は椅子の背もたれ部分にあるひとつのマンガン原子であった [論文]。

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 10 件)

Saito K, Ishikita H, "Influence of the Ca^{2+} ion on the Mn_4Ca conformation and the H-bond network arrangement in Photosystem II", *Biochimica et biophysica acta* 1837 159-166 (2014), 査読有,

doi:10.1016/j.bbabi.2013.09.013

Saito K, Rutherford AW, Ishikita H, "Mechanism of tyrosine D oxidation in Photosystem II", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 7690-7695 (2013), 査読有,

doi:10.1073/pnas.1300817110

Saito K, Rutherford AW, Ishikita H, "Mechanism of proton-coupled quinone reduction in Photosystem II", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 954-959 (2013), 査読有,

doi:10.1073/pnas.1212957110

Saito K, Kandori H, Ishikita H, "Factors that differentiate the H-bond strengths of water near the Schiff bases in bacteriorhodopsin and Anabaena sensory rhodopsin", *The Journal of biological chemistry* 287 34009-34018 (2012), 査読有,

doi:10.1074/jbc.M112.388348

Saito K, Ishikita H, "Energetics of short hydrogen bonds in photoactive yellow protein.", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 167-172 (2012), doi:10.1073/pnas.1113599108

Saito K, Umena Y, Kawakami K, Shen JR, Kamiya N, Ishikita H, "Deformation of chlorin rings in the Photosystem II crystal structure.", *Biochemistry* 51 4290-4299 (2012), 査読有,

doi:10.1021/bi300428s

Sugisaki M, Kosumi D, Saito K, Cogdell, RJ, Hashimoto H, "Generation of coherently coupled vibronic oscillations in carotenoids", *Physical Review B* 85 245408 (2012), 査読有,

doi:10.1103/PhysRevB.85.245408
Saito K, Ishikita H, "Cationic state distribution over the P700 chlorophyll II pair in photosystem I, *Biophysical journal* 101 2018-2025 (2011)

doi:10.1016/j.bpj.2011.09.010
Saito K, Ishida T, Sugiura M, Kawakami K, Umena Y, Kamiya N, Shen JR, Ishikita H, "Distribution of the cationic state over the chlorophyll pair of the photosystem II reaction center", Journal of the American Chemical Society 133 14379-14388 (2011), doi:10.1021/ja203947k
Saito K, Yanagi K, Cogdell RJ, Hashimoto H, "A comparison of the Liptay theory of electroabsorption spectroscopy with the sum-over-state model and its modification for the degenerate case" The Journal of chemical physics 134 044138 (2011), doi:10.1063/1.3524339

〔学会発表〕(計 22 件)

斉藤圭亮, 「光合成蛋白質における電子・プロトン移動の理論研究」, 日本物理学会第 69 回年次大会「若手奨励賞受賞記念講演」, 2013/3/28, 東海大学湘南キャンパス,

斉藤圭亮, A. W. Rutherford, 石北央「ロドプシンの機能に違いを生み出す水素結合強度の違い」, 2013/11/18, 岡崎コンファレンスセンター

斉藤圭亮, A. W. Rutherford, 石北央「光化学系 II におけるプロトン移動経路」, 第 51 回日本生物物理学会年会「若手招待講演」, 2013/10/28, 京都国際会館

K. Saito, H. Ishikita, 「Proton transfer in photosystem II」, 1st Korea-Japan Microalgae Symposium (KJMS 2013), 2013/10/11, KAIST(大田広域市, 韓国)

斉藤圭亮「光合成蛋白質における電荷分離の戦略」2013CREST 有機太陽電池シンポジウム, 2013/7/13, 京都大学宇治キャンパス

K. Saito, A. W. Rutherford, H. Ishikita 「Mechanism of quinone reduction in photosystem II」, Photosynthesis Research for Sustainability - 2013, 2013/6/5, バクー(アゼルバイジャン)

斉藤圭亮, 石北央「光合成光化学系 II におけるキノンはプロトン共役電子移動によって還元される」日本物理学会第 68 回年次大会, 2013/3/26, 広島大学東広島キャンパス

斉藤圭亮, 石北央「蛋白質構造に基づく理論解析による光合成初期過程における電子・プロトン移動機構の解明」, 第 54 回日本植物生理学会年会, 2013/3/21, 岡山大学津島キャンパス
斉藤圭亮, 石北央「光合成光化学系

II におけるクロロフィル平面のゆがみ」, 2012 年度日本生物物理学会中部支部講演会, 2013/2/19, 名古屋大学東山キャンパス

K. Saito, H. Ishikita 「Cationic State Distributions over Chlorophyll Pairs in Photosystem I and II」岡山大学国際シンポジウム「光合成システムの構造とダイナミクス」, 2012/10/22, 岡山大学津島キャンパス

斉藤圭亮, 石北央「ロドプシン活性中心における水の水素結合強度の違い」第 6 回分子科学討論会, 2012/9/21, 東京大学本郷キャンパス

斉藤圭亮, 石北央「Photoactive yellow protein における「低障壁水素結合」の化学」第 17 回日本光生物協会年会, 2012/8/18, 大阪大学吹田キャンパス

斉藤圭亮, 石北央「光化学系 II におけるクロロフィル平面のゆがみ」第 3 回日本光合成学会公開シンポジウム, 2012/6/2, 東京工業大学すずかけキャンパス

斉藤圭亮, 石北央「蛋白質環境による光合成光化学系 II の機能制御」日本物理学会 第 67 回年次大会, 2012/3/26, 関西学院大学 西宮上ヶ原キャンパス

斉藤圭亮, 柳和宏, 橋本秀樹「電場変調吸収(Stark)分光における Liptay 理論と状態和理論との比較」日本物理学会 第 67 回年次大会, 2012/3/27, 関西学院大学 西宮上ヶ原キャンパス

斉藤圭亮, 石北央「光合成蛋白質中におけるクロロフィル二量体上の正電荷分布の起源」, 第 25 回分子シミュレーション討論会, 2011/12/6, 東京工業大学大 大岡山キャンパス

斉藤圭亮「光合成の理論研究の実際～蛋白質構造に基づいた計算によってわかること～」日本光合成学会若手の会 第 5 回セミナー, 2011/10/23, 東京大学 本郷キャンパス

斉藤圭亮, 石北央「光合成蛋白質中におけるクロロフィル二量体上の電荷分布の起源」第 5 回分子科学討論会, 2011/9/20, 札幌コンベンションセンター

K. Saito, H. Ishikita 「Cationic state distributions over chlorophyll pairs in photosystem I and II」Photosynthesis Research for Sustainability - 2011, 2011/7/25, バクー(アゼルバイジャン)

斉藤圭亮「電場変調吸収分光の理論とそのカロテノイドへの応用」, カロテノイド若手の会, 2010/12/20, 箱根路開雲ホテル

- 21 齊藤圭亮, 杉崎満, 橋本秀樹「カロテノイドにおけるフォトンエコーの理論的研究」日本物理学会 平成 22 年度 秋季大会, 2010/9/26, 大阪府立大学
- 22 K. Saito, M. Sugisaki, H. Hashimoto「 Theory for photon echo in carotenoids including effects of the Rabi oscillation and the Duschinsky rotation 」 The 70th Okazaki Conference: Molecular Mechanism of Photosynthetic Energy Conversion, 2010/12/4-5, 岡崎コンファレンスセンター

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

・大阪大学プレスリリース

「光合成の中核をなす「歪んだ椅子」構造の謎を遂に解明・触媒活性の要因特定で人工光合成系の実現へ重要な一歩」2013/10/15
http://www.osaka-u.ac.jp/ja/news/ResearchRelease/2013/10/20131015_1

・京都大学プレスリリース

「光合成酸素発生反応で利用される蛋白質内のプロトン移動経路を発見」2013/4/16
http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news_data/h/h1/news6/2013/130416_1.htm

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齊藤 圭亮 (SAITO, Keisuke)
大阪大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号: 20514516

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし