

第4章 生体 π 空間の制御機構解明と新機能開発

1 光合成反応中心における長距離電子移動の経路解析

京都大学理学研究科 鬼頭-西岡 宏任, 安藤 耕司

1.1 はじめに

食物連鎖を遡り生命エネルギーの源を辿ると、植物等による光合成に行き着く。光合成では、太陽光エネルギーがアンテナ系と呼ばれる色素分子集合体で捕獲され、電子励起エネルギーに変換される。励起エネルギーは膜蛋白質に埋め込まれた反応中心に集められ、一連の電子移動反応による電荷分離を引き起こす。これに伴い、プロトンが細胞膜を貫いて汲み上げられ、その濃度勾配として蓄えられた電気化学的エネルギーを利用して、生命エネルギーの通貨である ATP(アデノシン三リン酸)が合成される。電子移動、プロトンポンプ、ATP 合成の三者は、細胞呼吸によるエネルギー代謝においても機能している。このように、生命エネルギーの根幹は、電子とプロトンの化学的移送に支えられていると言える。我々の研究グループは、これらの生体エネルギー変換過程が、分子レベルでどのように作動しているかを理解するために、量子力学と統計力学に立脚した基礎理論を開発し、大小のコンピュータを駆使した解析計算を実行している。

1.2 光合成反応中心における電子移動

上記の生体エネルギー変換過程では、ほぼ例外なく π 電子系が主要な役割を演じている。例えば、光合成を行うバクテリアにおいて活躍する分子の代表は、バクテリオクロフィル(以下 BChl)と呼ばれ、図 1 の B_L と B_M に示されている¹⁾。(詳しくは、図 2 に H_L と示されている分子の中心にマグネシウムイオンが入った構造をしている。) 図 1、2 の H_L は、バクテリオフェオフィチン(BPhe)と呼ばれる。他にメナキノン(MQ)、ユビキノン(UQ)、カロテノイドという分子も関与する。これらはいずれも π 電子系であり、反応の主役も π 電子が担っている。

太陽光エネルギーは、BChl 集合体から成るアンテナ系で捕獲され、上記の反応中心に集められる。そこでまず special pair と呼ばれる BChl 二量体(図 1 の P)が励起エネルギーを受け取り、それに誘起されて一つの電子が隣接する BChl (B_L)に移動する。電子はさらに隣にある BPhe (H_L)に渡され、MQ を経て UQ へ移動する。この最後の 2 段階に関与する主要分子を示したのが図 2 である。図 1 に見られるように、これらの酸化還元中心は蛋白質中に埋め込まれているが、それらの間の電子移動反応において蛋白質環境が果たす役割は、未だ明らかになっていない。例えば、蛋白質はこれらの分子らを単に適切な位置に保持しているだけなのか、それとも特定のアミノ酸残基が電子の輸送を媒介するような役割を担っているのか、といった疑問である。これを解明するためには、電子・原子のレベルで量子力学に基づいた解析を行う必要がある。これには二段の基礎的課題がある。第一は、蛋白質のような巨大高分子の電子状態を精度良く、少なくとも定性的に正しく求めることである。第二は、求めた電子波動関数から、電子移動の微視的機構を解析する手法を確立することである。

1.3 巨大分子系の電子状態計算

電子移動反応は、基本的には一電子過程として記述できるが、主要な一電子軌道関数を決定するには、関与する大きな領域を含む分子系の多電子問題を解く必要がある。これは、近年のコン

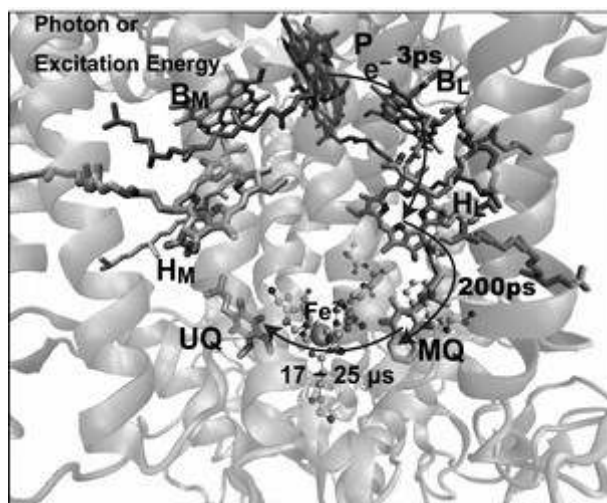


図 1 光合成細菌 *Blastochloris viridis* の反応中心

「高次 π 空間の創発と機能開発」シーエムシー出版 pp.203-207 (2013)

コンピューターの高速化や、計算手法の発展により可能性が拡がりつつある。巨大分子系の電子状態を計算する手法の代表として、フラグメント分子軌道法²⁾と、分割統治法³⁾がある。ここでは、本研究で主に利用した前者の要点を述べる。フラグメント分子軌道法は、大きな分子系をフラグメントに分割し、各フラグメントの分子軌道を他のフラグメントからの静電場の下で、全体が相互に無矛盾となるまで反復計算して最適化する。収束した分子軌道を用いて、全てのフラグメント対のエネルギーを計算して交換相互作用を取り入れ、フラグメント単体のエネルギーと合せて全系のエネルギーを決定する。この方法では、全系の波動関数が得られないという欠点があったが、常行らによるフラグメント分子軌道線形結合法により最近解決された⁴⁾。我々は、この方法を適用して得た分子軌道関数を基に、架橋グリーン関数法およびトンネル電流解析法により、長距離電子移動の経路を解析する手法を開発した⁵⁾。

1.4 電子移動経路解析

架橋グリーン関数法では、大きな分子系のハミルトニアン行列を、電子移動の供与体と受容体の2準位問題に射影する。その際に、縮約された残りの系すなわち電子移動の架橋となる環境系の情報が、いわゆるグリーン関数行列の形で取り入れられる。我々の方法では、原子軌道関数を基底とする従来法とは異なり、フラグメント分子軌道を基底とするので、分子の化学的性質を反映させた描像を直接的に得ることができる。これは、次に述べるトンネル電流解析でも同様である。トンネル電流解析法では、電子移動を基底関数間の電流の寄与に分割する。これにより、長距離電子移動の経路を実空間で解析することができる。上にも記したように、我々の方法はフラグメント分子軌道を基底とする点の特徴となる。ただし、このトンネル電流の場合には、原子軌道関数を基底とする従来法においても、単純にフラグメント内の総和を取れば、同様の解析が可能である。しかしながら、フラグメント分子軌道を基底とする方が、基底関数の次元を1桁以上抑えられるために、計算コストが大幅に軽減される。よって、従来法では拡張ヒュッケル法などの半経験的分子軌道法が適用限界だったような巨大な蛋白質系の計算も、非経験的分子軌道法によって容易に実行することが可能となった。

1.5 光合成反応中心への応用

以上の方法を、図2に示した光合成反応中心における電子移動に適用した。本稿では、MQからUQへの電子移動において、中間に位置する非ヘム鉄イオン錯体の役割を解析した結果を紹介する⁶⁾。図2(b)に見られるように、この鉄イオンには5つのアミノ酸残基(4つのヒスチジンと1つのグルタミン酸)が配位している。EPR実験によれば、この鉄イオンは $S=2$ の高スピン状態にある⁷⁾。ヒスチジンの側鎖は拡がりを持つ π 電子を含むので、電子移動を媒介する可能性が高い。

計算により得られた電子結合エネルギーを基に見積った電子移動時定数(速度定数の逆数)は、野生型(高スピン鉄イオン)の場合で $9.5\mu\text{s}$ であり、実験値^{8,9)}の $25\text{--}36\mu\text{s}$ を2~3倍過小評価している。速度定数が熱活性化因子に敏感であることを考慮すれば、この程度のオーダーの一致以上の高い精度を望むのは、現状では難しい。よって、以下に述べるように、スピン状態や金属置換などについて、多角的に解析することが有意義となる。

鉄イオンを低スピン状態に設定すると、時定数は $19\mu\text{s}$ となり、反応は2倍程遅くなる。野生型の高スピン状態の方が速いことが、生物による最適化を意味するのか否かは不明である。鉄錯体の配位子の構造によってスピン状態を変化させ得るので、これが電子移動速度を制御する可能性もある。鉄イオンを二価の亜鉛イオンで置換した場合の時定数は $9.9\mu\text{s}$ であり、高スピン鉄の場合とほぼ同じである。これは、実験事実と定性的に一致している。(野生型 $150\mu\text{s}$ に対し亜鉛置換で $140\mu\text{s}$ 。ただし、絶対値の相違は本研究とは異なる種類のバクテリアに関する実験であることによる¹⁰⁾。)金属イオンを除去した場合の計算値は $45\mu\text{s}$ で、野生型よりも4倍程遅くなる。これも実験事実と半定量的に一致している。(上記の異種バクテリアの実験値は $350\mu\text{s}$ 。)

図3は、これらの系のトンネル電流解析の結果を示したものである。矢印の向きと太さが電子の流れる方向と寄与の大きさを表す。(a)は二価鉄イオンの高スピン状態を含む野生型、(b)は低スピン状態に設定した鉄イオン錯体、(c)は鉄イオンを亜鉛イオンで置換したもの、(d)は金属イオンを除去した場合の計算結果である。上述のように、鉄イオンの置換や除去によって速度が大きく変らないという実験結果から、この電子移動は鉄イオンを経っていないことが過去に示唆されていた。しかしながら、

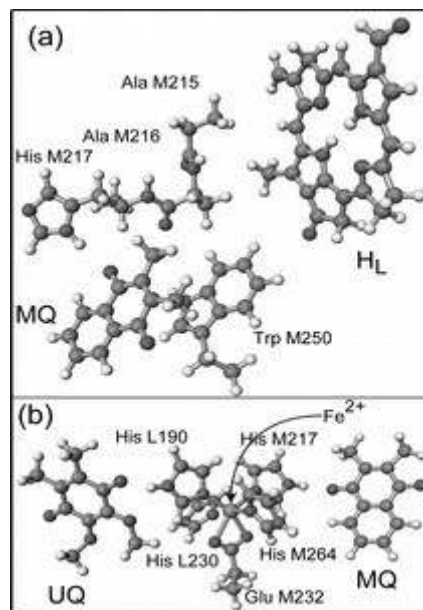


図2 三つの酸化還元中心(バクテリオフェオフィチン HL 、メナキノン MQ 、ユビキノン UQ)および周辺のアミノ酸残基と非ヘム鉄イオン

(a)の結果は電子が確かに鉄イオンを通っていることを示している。スピン状態の異なる(a)と(b)を比較すると、主要な矢印の太さは後者の方が大きい、逆向きの電子移動の寄与も大きいため、全体として(b)の速度が低下していることが見て取れる。全体の定性的パターンは(a)と(b)で類似している。亜鉛置換した(c)では、MQ から金属イオンへの電子移動とUQ から金属イオンへの逆電子移動の両方が小さくなっている。これは、亜鉛では3d 軌道が埋まっているために、空軌道を介した経路が不利になることを示唆する。代りに、MQ から His M217 への経路の寄与が大きくなっている。金属イオンを除去した系(d)では、この His M217 を使った経路が支配的になる。このように、鉄イオンの置換や除去といった擾乱を緩和し、電子移動の可能性を断たない安定性を確保する役割をヒスチジン残基が果しているという描像が得られる。

1.6 おわりに

現実的な分子系の理論計算には常に近似が含まれるので、実験との整合を確認しながら慎重に研究を進める必要がある。その上で、実験だけでは捉えきれない詳細なメカニズムの議論が可能になる。生体エネルギー変換の微視的描像は、このように実験と理論計算を両輪としながら、今後も着実に進展していくものと期待される。

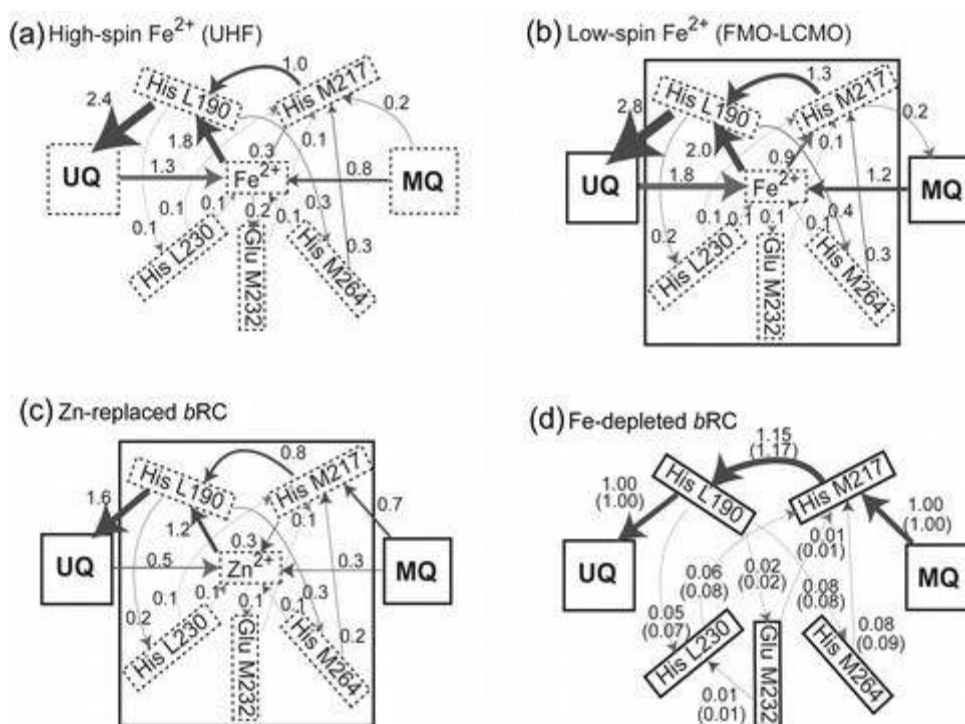


図3 メナキノン(MQ)からユビキノン(UQ)への電子移動経路解析結果

文 献

- 1) J. Deisenhofer *et al.*, *J. Mol. Biol.*, **246**, 429 (1995).
- 2) K. Kitaura *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, **313**, 701 (1999).
- 3) T. Akama *et al.*, *J. Comput. Chem.*, **28**, 2003 (2007).
- 4) S. Tsuneyuki *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, **476**, 104 (2009).
- 5) H. Nishiooka and K. Ando, *J. Chem. Phys.*, **134**, 204109 (2011).
- 6) H. Kitoh-Nishiooka and K. Ando, *J. Phys. Chem. B*, **116**, 12933 (2012).
- 7) G. Feher and M. Okamura, *Appl. Magn. Reson.*, **16**, 63 (1999).
- 8) W. Leibl and J. Breton, *Biochemistry*, **30**, 9634 (1991).
- 9) P. Mathis *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1098**, 151 (1992).
- 10) R. Debus *et al.*, *Biochemistry*, **25**, 2276 (1986).