トピックス

分光電気化学法による光合成光化学系II電子受容分子の酸化還元電位計測

加藤祐樹, 渡辺 正 東京大学生産技術研究所

1. はじめに

酸素発生型の光合成では、2つの光化学系 (Photosystem: PS) が、光エネルギーを化学エネルギーに高効率に変換している。PSは機能分子とタンパク質からなる複合体であり、水を分解して酸素を発生する反応がPSIIとよばれる複合体で行われ、他方のPSIではNADPHを生成し、引き続いて起こる炭素固定に必要な還元力を備えている。こうした2つのPSの役割は、反応に携わる機能分子の酸化還元電位 E_m によって特徴づけられているといえる。

機能分子の E_m をもとにすると、反応経路はおおまかに図1に示すような模式図で表される¹⁾。ここであくまで“おおまか”であることに注意されたい。というのは、すべての E_m の値が実測されているのではなく、推測に留まる部分も含まれているからである。また、実測値も研究者 (≈ サンプル・測定条件など) によってしばしば異なるため、推測する上での“基準”がぶれるだけでなく、電位差から導かれるギブズ自由エネルギー変化 $\Delta G (= -e\Delta E_m)$ も実態とかけ離れている場合がある。

これまで、PSにおける E_m のほとんどが酸化還元滴定法で測定されてきており、上述の問題はこの手法が抱える問題に起因するといえる。こうした状況を鑑み、われわれは分光電気化学法の適用により、種々の機能分子の E_m を高精度に計測する手法の確立を図ってきた²⁾⁻⁴⁾。本稿では、PSIIにおける従来の E_m 値にかかる諸問題を概観した上で、われわれの最近の研究成果を紹介する。

2. PSIIにおける電子受容分子の E_m とエネルギー論

図1は横に倒して眺めた姿からZスキームとよばれ、歴史をたどれば基本概念の提唱は1960年まで遡る。それ以後各機能分子の同定および E_m の決定に伴い、反応機構の理解は進み、現在の姿にまとめられる。

PSIIが生み出す酸化力の強さは、1次電子供与体P680 (呼称の数値は光照射時に示す吸光度変化のピーク波長に由来) の E_m によって決定づけられ、この強さを源に、水の酸化分解を可能にしているといえる。

しかし、 E_m が高すぎる (あるいは低すぎる) と測定の困難度は増すため、PSIIにおいてはP680をはじめとする酸化側の E_m が実測されていないのである。実測されているのは、光励起したP680 (P680*) から電子を受け取るフェオフィチン (Phe) a とプラストキノン Q_A に限られ、これらの値をもとにP680など他の E_m が見積もられている。

Phe a の E_m 計測は、1979年にKlimovらによっではじめて行われ、 -610 ± 30 mVと決定された⁵⁾。さらにPhe a ・P680*間の ΔG を速度論的解析により80 meVと見積もり、P680の光励起エネルギー分 (680 nm ≈ 1.83 eV) を差し引くことで、P680の E_m を+1,120程度と推測している⁵⁾。その後、Phe a の E_m の追試は1件のみだが、再現性が確認されている⁶⁾。

一方、 Q_A の E_m 計測は1960年代からなされ、30以上の報告例があるが、報告によって値がばらついており、コンセンサスが得られていなかった。そうした中、1995年のKriegerらによる報告⁷⁾ が1つの終止符となっている。PSIIサンプルの酸素発生活性の有無と E_m に相関があることを見だし、通常 -81 ± 16 mVであるところ、活性の喪失により140 mVほどシフトして $+64 \pm 25$ mVとなることを報告した。こうしたサンプルの状態による電位の変動が過去の E_m 値のばら

図1 光合成における電子伝達経路 (通称Zスキーム)。文献1をもとに近年の報告値を盛込んで作製。各 E_m は、標準水素電極 (SHE) 電位を基準とする値。(電子ジャーナルではカラー)

Spectroelectrochemical Measurement of the Redox Potentials of the Electron Acceptors in Photosystem II

Yuki KATO and Tadashi WATANABE

Institute of Industrial Science, the University of Tokyo

図 2 Phe a のネルンストプロット。実線は 1 電子酸化還元理論曲線。文献 2 より改変。

図 3 Phe a・Q_AのE_m値をもとにしたPSIIにおける電位相関図。各ΔGの値・意味については文献3を参照されたい。(電子ジャーナルではカラー)

つきの主要因と結論付けている。

以上のE_m値から、Phe a・Q_A間のエネルギー変化ΔG_{PhQ}は-530 meVほどとなり、P680*からQ_Aへの一連の電子伝達を効率よく進める要因といえるかもしれないが、それでは差が大きすぎて(平衡定数に換算すれば約10⁹)逆反応はほぼ観測されないことになる。ところが、古くから遅延蛍光とよばれる逆反応に伴う弱い発光現象が観測されていることなどから、このE_mをもとにしたエネルギー論は実態にそぐわないとみなされるようになり、2000年代に入ると、速度論的解析の精査の末2つの研究グループがΔG_{PhQ}は-310~-340 meV程度と決定した^{8),9)}。Q_AのE_m値を“基準”にすると、P680のE_mは+1,250 mV程度と見積もられ、それ以後、これらP680とQ_AのE_m値がより妥当なものとして認識されるようになったのである。

3. PSII への分光電気化学法の適用

E_mを測定する上で、滴定法では酸化剤・還元剤の添加量によって電位が変動するため系の平衡を制御しづ

らく、誤差を生じやすい。その点、電気化学機器(ポテンショスタット)と電極を用いれば、容易にかつ短時間で制御できる。一例としてPhe aの分光電気化学計測により得られたネルンストプロット³⁾を図2に示すが、理論曲線とのよい一致が“論より証拠”といえよう(程度は比較するしかないの、興味あれば既報の図を参照されたい)。また滴定法だと還元側の電位が溶液のpHに制約されるのが問題だったが³⁾、電極材の選択によりpH 6.5という生理的条件での計測が可能となり、Phe aのE_mを-505±6 mVと決定した。同様の測定条件におけるQ_AのE_m計測手法も確立し、活性がある場合で-140±2 mV、ない場合で+20 mVと決定した⁴⁾。決定したPhe a・Q_AのE_m値を単純に差し引くとΔG_{PhQ}は-365 meVとなり、速度論的解析の結果とも矛盾はない。いずれのE_m値からもP680のE_mは+1190 mV程度にあると推測できる(図3)。

4. 終わりに

光合成研究の歴史は非常に古い、水の酸化機構など未解明な部分が多く残されている。近年ではX線結晶構造解析の技術進歩に伴い、両PSとも高分解能の構造モデルが提示され、原子レベルでの解明が急速に進んでいる。われわれの研究も、端的に言えば、電位計測の“分解能”向上により“おおまか”なスキームの一面をより明確にしたといえよう。今後は、未計測の機能分子にも展開していきたい。また、計算科学による理論研究も進められ、電位と構造の相関について議論されるようになってきている。P680のE_mに関しては、石北の総説¹⁰⁾を参照されたい。

文 献

- 1) Prince, C. R. (1996) Trends Biochem. Sci. **21**, 121-122.
- 2) Nakamura, A. *et al.* (2005) FEBS Lett. **579**, 2273-2276.
- 3) Kato, Y. *et al.* (2009) Proc. Natl. Acad. Sci. USA **106**, 17365-17370.
- 4) Shibamoto, T. *et al.* (2009) Biochemistry **48**, 10682-10684.
- 5) Klimov, V. V. *et al.* (1979) Dokl. Akad. Nauk SSSR **249**, 227-230.
- 6) Rutherford, A. W. *et al.* (1981) FEBS Lett. **123**, 235-237.
- 7) Krieger, A. *et al.* (1995) Biochim. Biophys. Acta **1229**, 202-207.
- 8) Rappaport, F. *et al.* (2002) Biochemistry **41**, 8518-8527.
- 9) Grabolle, M., Dau, H. (2005) Biochim. Biophys. Acta **1708**, 209-218.
- 10) 石北 央 (2010) 生物物理 **50**, 286-289.

加藤祐樹

加藤祐樹(かとう ゆうき)

東京大学生産技術研究所助教

工学博士。2004年より現職。

研究内容: 光合成電子伝達機構の解明溶液/電極界面電子移動反応の解析

連絡先: 〒153-8505 東京都目黒区駒場 4-6-1

E-mail: yukikato@iis.u-tokyo.ac.jp

渡辺 正(わたなべ ただし)

東京大学生産技術研究所教授

工学博士。1992年より現職。

E-mail: watanabe@iis.u-tokyo.ac.jp