

課題名 (タイトル) :

天然光合成における  $Mn_4Ca$  クラスター活性状態  $S_4$  の構造予測

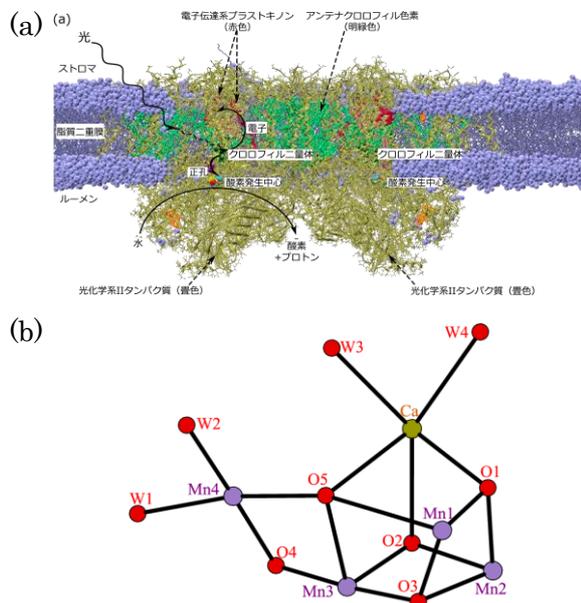
利用者氏名 : ○ 畠山 允、栗田 康夫、Wang Yuanqing、Lyu Lingyun

所属 : 和光研究所 社会知創成事業 イノベーション推進センター 中村特別研究室

1. 研究背景

化石燃料の枯渇が予想される近年、再生可能エネルギーの開拓が期待されている。本課題では、光エネルギーを貯蔵容易な化学エネルギーへ変換する植物の光合成反応に注目し、関連する分子や化学反応について理論的研究を実施した。

本課題ではまず、光合成—水分解反応の反応中心  $Mn_4Ca$  クラスターについて注目した。 $Mn_4Ca$  クラスターは、光酸化したクロロフィル色素から水への酸化力移動を中継する分子であり、水 2 分子の酸化分解に必要な四酸化当量を自身に蓄えることで水分解を促進する(図 1-(a, b))。その特徴から、各酸化状態  $S_i$  ( $i$  ; 酸化当量の蓄積数) について様々に解析されてきた(図 1-(c))。しかし、四酸化当量が蓄積した活性状態  $S_4$  については実験方法が確立しておらず、その詳細とその後の水分解過程は未解明となっている。本課題では、 $Mn_4Ca$  クラスター- $S_4$  状態の解明を目的として、 $S_4$  直前の準活性状態  $S_3$  に関する理論予測を前年度に引き続き実施し、 $S_3$  状態に基づいた  $S_4$  状態の予測にも取り組んだ。



(c)

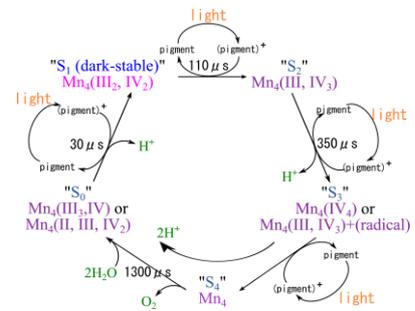


図 1. (a) 天然光合成—水分解反応を駆動する膜タンパク模式図 (b)  $Mn_4Ca$  クラスターの結晶構造 (c) 水分解過程における  $Mn_4Ca$  クラスターの状態変化

本課題ではまた、光合成のような精妙な反応機構を可能にする分子場の理解を目指し、特異的な分子場や分子構造の理論研究に取り組んだ。具体的には、2つのビタミン  $B_6$  誘導体がシッフ塩基と銅イオンで架橋された化合物(以下 1、図 2) に注目し、その分子結晶に現れる 2.3 Å の分子間炭素—炭素距離について解析を行った。2.3Å の炭素間距離は、分子間炭素距離の一般的な値 3.4Å より短く、一方で炭素間の共有結合距離 1.5Å より長い。その為、結合状態とも非結合状態とも異なる特異的な分子場を示唆するものとして、注目・解析を実施した。

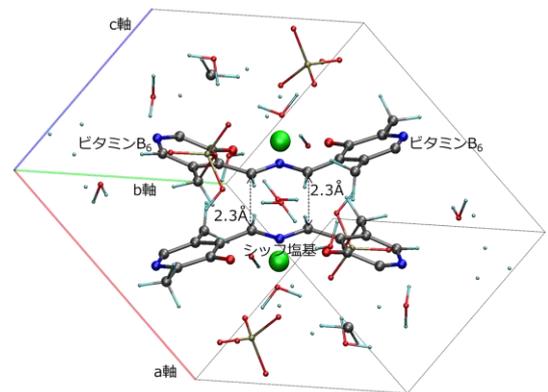


図 2. 化合物 1 の結晶単位胞。球の色と元素の対応 ; 緑—銅、黄—磷、赤—酸素、青—窒素、灰—炭素、水色—水素。

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

水分解中心  $\text{Mn}_4\text{Ca}$  クラスターの解析には Gaussian09 パッケージを用いた。DFT 汎関数には B3LYP と wB97XD を検討した。基底関数としては、典型元素には 6-31G(d) と 6-311G(d) を検討し、金属には LanL2DZ と LanL08 を検討した。Mn の 3d 電子は全て同種スピンとし、Mn の安定状態である高スピン配置が発現するように初期電子密度を設定した。 $\text{Mn}_4\text{Ca}$  クラスターと各金属に結合したアミノ酸、金属間の架橋オキソ酸素、水を QM 領域として電子状態計算の対象とした。QM 領域をタンパクから切り出した計算、および QM 領域周辺のタンパクを Amber 力場で考慮する計算の 2 種を検討した。 $S_3$  状態の理論予測では、 $S_3$  以前の  $S_2$  状態に関する我々の先行研究 (Yang, J., *et al.*, *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 14215-14222) を踏襲した。 $S_2 \rightarrow S_3$  変化の実験事実 (クラスターの 1 電子酸化および水からタンパク外への  $1\text{H}^+$  放出) も考慮して、脱プロトン化した水  $\text{OH}^-$  の位置をそれぞれの金属配位水に検討した。また、広域 X 線吸収端微細構造 (EXAFS) から絞りこまれている以下 2 種の Mn-Mn 距離セットも実験情報として考慮した; A セット (2.7 Å 距離の Mn-Mn ペアが 3 つ、2.8 Å の Mn-Mn が 1 つ  $S_3$  状態で存在)、B セット (2.7 Å の Mn-Mn が 2 つ、2.8 Å の Mn-Mn が 1 つ、3.3 Å の Mn-Mn が 1 つ存在)。

化合物 **1** が示す特異的に短い分子間炭素距離については、CPMD パッケージを用いて解析した。DFT 汎関数には PBE、BLYP、B3LYP、TPSS を検討した。平面波基底関数は 100Ry まで考慮し、内殻電子は Troullier Martins 擬ポテンシャルで近似した。

## 3. 結果

$\text{Mn}_4\text{Ca}$  クラスター- $S_3$  状態の構造モデルとして、クラスターとその金属配位子から成る QM 領域の最適化構造を図 3 に示した。脱プロトン化した金属配位水  $\text{OH}^-$  を金属配位水 W1-W4 にそれぞれ検討したところ、異なる立体構造と Mn-Mn 距離が得られた。Mn 配位水 W1 ないし W2 を  $\text{OH}^-$  とした場合、隣接 Mn ペアである Mn1-Mn2、Mn1-Mn3、Mn2-Mn3、Mn3-Mn4 は 2.7-2.8 Å 距離を示し、オキソ酸素

O1-O5 のいずれか 2 つを挟んだ構造となった。この結果は、多核 Mn 錯体で良く知られた傾向 (2 つのオキソ酸素で架橋された Mn-Mn ペアの距離; 2.7-2.8 Å) と同様であった。また、EXAFS が示唆する 2 種の Mn-Mn 距離セットと比較すると、A セット (2.7 Å 距離の Mn-Mn が 3 つ、2.8 Å の Mn-Mn が 1 つ) と同じ傾向となった。一方で、Ca 配位水 W3 ないし W4 が  $\text{OH}^-$  の場合は、1 つの Mn-Mn ペアが 3.0 Å を超えて長くなった。W3 が  $\text{OH}^-$  の場合は、構造最適化中に W3-OH と Mn4 が接近し、その分 Mn4 と直近の Mn3 との距離が長くなった。W4 が  $\text{OH}^-$  の場合は、最適化中に W4-OH から Mn1 への 1 電子移動が起こり、Mn(III) となった Mn1 が Mn(III) 特有の Jahn-Teller 歪みを Mn1-O5 間に示した結果、Mn1 と Mn3 の距離が長くなった。W3 ないし W4 が  $\text{OH}^-$  の構造の Mn-Mn 距離を EXAFS 分光結果と比較すると、B セット (2.7 Å の Mn-Mn が 2 つ、2.8 Å の Mn-Mn が 1 つ、3.3 Å の Mn-Mn が 1 つ) に近い傾向であった。しかし W3 ないし W4 が  $\text{OH}^-$  の構造は、W1 ないし W2 が  $\text{OH}^-$  の構造よりもエネルギーが高く、特に W1 が  $\text{OH}^-$  のものよりも 10.0 kcal/mol 以上エネルギーが高くなった。

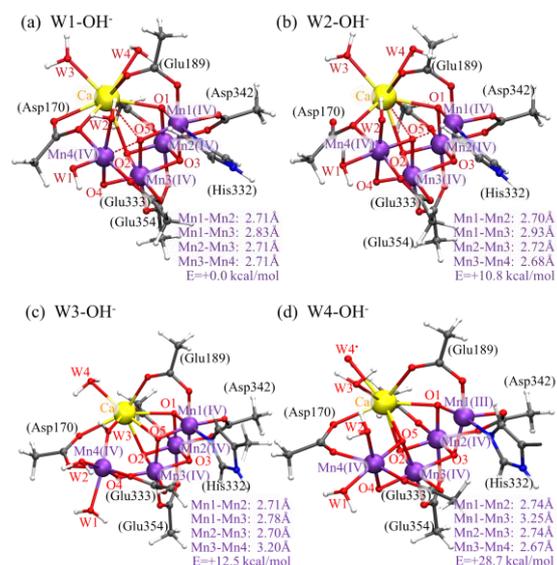


図 3.  $\text{Mn}_4\text{Ca}$  クラスター- $S_3$  状態の DFT 最適化構造; (a) W1 が  $\text{OH}^-$ 、(b) W2 が  $\text{OH}^-$ 、(c) W3 が  $\text{OH}^-$ 、(d) W4 が  $\text{OH}^-$ 。

W1 ないし W2 が  $\text{OH}^-$  の構造では、隣接 Mn-Mn ペア夫々が 2 つのオキソ酸素を挟んだ構造とな

った。その結果、クラスター中心のオキソ酸素 O5 は Mn1、Mn3、Mn4、Ca を架橋し、特に 3 つの Mn とは T 字型の構造をとった。オキソ酸素は通常  $sp^3$  ないし  $sp^2$  混成軌道をなし、金属-オキソ-金属の結合角は  $100^\circ$  以上が一般的であるため、O5 が Mn と作る T 字は特異的な構造であった。そこで、W1 ないし W2 が OH $^-$  の構造における Kohn-Sham 軌道に注目すると、O5 から Mn1 ないし Mn4 へ分布する軌道は特異的な形であった (W1-OH $^-$  構造の O5 局在化軌道 (図 4) 参照)。例えば、W1 が OH $^-$  の構造では、O5 から Mn1 へ歪んだ局在化軌道は O5 の 2s 原子軌道が強く寄与し、2p 原子軌道が寄与する O5 から Mn1、Mn3、Ca への局在化軌道とは異なった。これら軌道について詳細を現在解析中である。

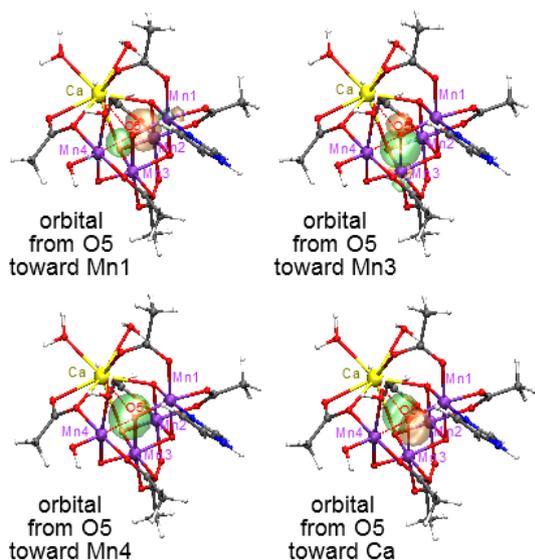


図 4. Mn<sub>4</sub>Ca クラスター S<sub>3</sub> 状態の局在化軌道 (水脱プロトン化状態; W1-OH $^-$ 、W2-OH<sub>2</sub>)

Mn<sub>4</sub>Ca クラスター S<sub>4</sub> 状態の予測モデルとして、前述の S<sub>3</sub> 状態モデルから出発して得られたものを図 5 に示した。初期モデルである S<sub>3</sub> 状態には、W1 が OH $^-$  の最安定構造を考慮した。S<sub>3</sub>→S<sub>4</sub> 変化で 1H $^+$  が放出される為、W1-OH $^-$  が更に O $^{2-}$  に脱プロトン化したモデルと、W2-OH<sub>2</sub> が OH $^-$  になったモデルを検討した。実際の W1 が O $^{2-}$  のモデルでは、S<sub>3</sub>→S<sub>4</sub> 変化で酸化された残基が W1 となり、W1 はオキシラジカル O $^{\cdot-}$  となった。W2 が OH $^-$  のモデルでは、クラスター外縁の O4 が O $^{\cdot-}$  となったが、W1 が O $^{\cdot-}$  のモデルより 10.0kcal/mol 以

上高いエネルギーを示した。W1-O $^{\cdot-}$  を中心とした水分解反応について現在解析中である。

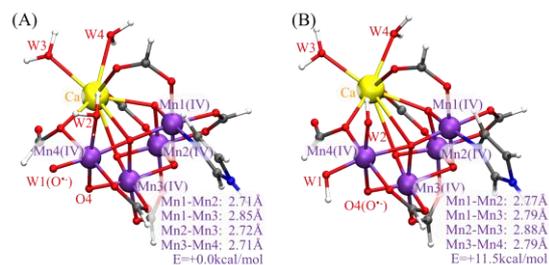


図 5. Mn<sub>4</sub>Ca クラスター S<sub>4</sub> 状態の DFT 最適化構造; (A) W1 が O $^{2-}$ 、(B) W1 と W2 が OH $^-$ 、O4 が O $^{2-}$ 。

化合物 1 については、まず DFT 構造最適化を行い、2.3Å の短い分子間炭素距離が DFT 計算でも再現されるか検証した。結果、DFT 汎関数によらず、分子間炭素距離は 2.6-2.8Å 程度の距離となった。この値は、実験値 2.3Å よりは長い、分子間炭素距離の一般的な値 3.4Å よりは十分短くなった。よって、DFT 計算でも短い炭素間距離が再現されると捉え、その電子状態について更に解析した。Kohn-Sham 軌道から、分子間炭素-炭素ペアで順位相の相互作用をする軌道が占有軌道である一方、逆位相相互作用の距離は非占有であった (図 6)。

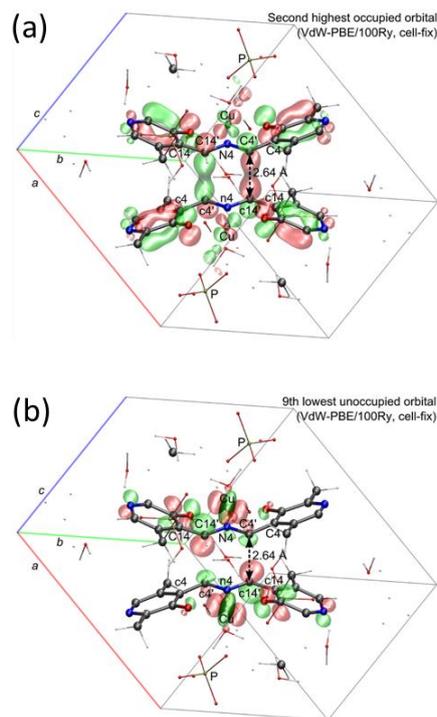


図 6. 化合物 1 の Kohn-Sham 軌道; (a) 第二最高占有軌道、(b) 第八最低非占有軌道。

**1** の軌道の特徴は、芳香族のような閉殻炭化水素が示す分子間軌道相互作用（逆位相相互作用の軌道も占有される）とは異なる一方、ラジカル $\pi$ 分子が互いにスピン反平行となって近接した場合の分子間軌道相互作用と同様であった。実際、**1** 単量体は 2 つのビタミン B<sub>6</sub> 誘導体がシッフ塩基と銅イオンで架橋された化合物であり、銅とその他との電子授受によってラジカルと成り得るものであった。そこで、上記計算は **1** 同士がスピン反平行となって近接した一重項状態のものであったと捉え、スピン平行となる三重項、五重項状態について更に解析し、ラジカルスピンの近接炭素ペアに分布するか否か、またそれに伴って分子間炭素距離が変化するかを検討した。結果から、三重項、五重項状態では近接した炭素ペアに同一方向のスピンが複数分布し、その最適化構造では炭素間距離は 3.0Å を超えて長くなった。以上の結果から、**1** の特異的に短い分子間炭素距離の起源として、ラジカル分子間の軌道相互作用が示唆された。

#### 4. まとめ

光合成一水分解中心 Mn<sub>4</sub>Ca クラスターの DFT 計算から、活性状態 S<sub>3</sub> および S<sub>4</sub> の構造が示唆された。S<sub>3</sub> 状態における特異的な Mn-O-Mn 架橋構造の寄与が示唆され、また、S<sub>4</sub> 状態におけるオキシラジカル O<sup>•-</sup> の形成が示唆された。

ビタミン B<sub>6</sub> 誘導体 2 つがシッフ塩基で架橋された化合物 **1** について、その分子間炭素距離が特異的に短くなる原因を明らかにした。化合物 **1** がラジカル $\pi$ 分子である事、ラジカル電子同士の分子間軌道相互作用が近接炭素ペアに発現する事が原因として示唆された。

#### 5. 今後の計画・展望

水分解中心 Mn<sub>4</sub>Ca クラスターの活性状態について示唆された特異的な Mn-O-Mn 架橋構造に注目し、水分解反応との関連解明に取り組む。クラスター中心のオキソ酸素 O5 は周囲の 3 つの Mn と特異的な T 字型構造を作り、O5 から Mn へ伸びる軌道の 1 つは O5 の 2s 原子軌道が寄与する形になっ

た。その概形は、安定なオキソ酸素が通常示す sp<sup>3</sup> ないし sp<sup>2</sup> 混成軌道とは異なり、O5 と 1 つの Mn の相互作用は不安定と予想される。その不安定な相互作用と水分解反応が関連する 1 つの可能性として、例えば、不安定な Mn-O 部分での Jahn-Teller 歪みの発現を促進し、対応する Mn が水を酸化する (Mn は還元される) モデルが予想される。予想モデルの検討も含め、水分解反応について今後より詳細に解析していく。

平成 26 年度 RICC 利用研究成果リスト

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】

(論文発表)

著者名：J. Yang, M. Hatakeyama, K. Ogata, S. Nakamura, C. Li

論文題名：Theoretical Study on the Role of  $\text{Ca}^{2+}$  at the  $\text{S}_2$  State in Photosystem II

雑誌：The Journal of Physical Chemistry B

掲載日：2014 年 10 月 30 日

著者名：M. Hatakeyama, K. Ogata, T. Ishida, K. Kitamura, S. Nakamura

論文題名：Theoretical Study on Carbon-Carbon Short Contact of  $\sim 2.3 \text{ \AA}$ : Intermediate State between Nonbonding and  $\sigma$ -Covalent Bonding

雑誌：The Journal of Physical Chemistry A

掲載日：2015 年 1 月 5 日

(学会発表)

発表者名： 畠山 允、緒方 浩二、中村 振一郎

講演題名：水分解触媒  $\text{Mn}_4$  クラスター- $\text{S}_3$  状態の構造に関する理論的研究

会議名： 第 5 回日本光合成学会年会 2014 奈良

発表年月日：2014 年 5 月 30 日～31 日

場所：近畿大学奈良キャンパス、奈良

発表者名： Makoto Hatakeyama, Koji Ogata, Shinichiro Nakamura

講演題名：Theoretical Study of the  $\text{S}_3$  state of the  $\text{Mn}_4\text{Ca}$ -cluster in Photosystem II: A compact chair form consisting of the short Mn-Mn pairs

会議名： 第 52 回日本生物物理学会年会 2014 北海道

発表年月日：2014 年 9 月 25 日～27 日

場所：札幌コンベンションセンター、北海道