

## 研究紹介

X-ray Absorption Spectroscopy を用いた Photosystem II Mn クラスターの  
構造に関する研究Lawrence Berkeley National Laboratory  
矢野淳子

Lawrence Berkeley Lab. (LBNL)で Photosystem II OEC (Oxygen Evolving Complex) の研究に携わっている。研究室がある Calvin Laboratory は Melvin Calvin がノーベル賞を取った直後に建てられ、光合成研究の歴史は古い。しかし、この 2,30 年で組織内の構造もかわり、実際に光合成関係の研究に携わる研究者は少なくなっている。イラク戦争が始まってからこのかた、研究費は横ばい状態。おそらくこの国でも同じように、何かあると国の予算は研究費、教育費から減らされる。しかし、悪いニュースばかりではない。エネルギー関連の研究はここ最近より注目されており、それに関連して光合成関連の研究も少し息を吹き返しつつあるように思える。

私が所属している研究室では、主に X-ray Absorption Spectroscopy (XAS) を用いて、Photosystem II (以下、PS II) の Mn クラスターの構造と機能や、その他の Mn モデル化合物の電子構造に関する研究を行っている(1)。XAS は吸収原子近傍の局所構造やその電子状態を求める手法で、Mn の K 吸収端にあたる XANES 領域 (~6550 eV) からは Mn の電子状態

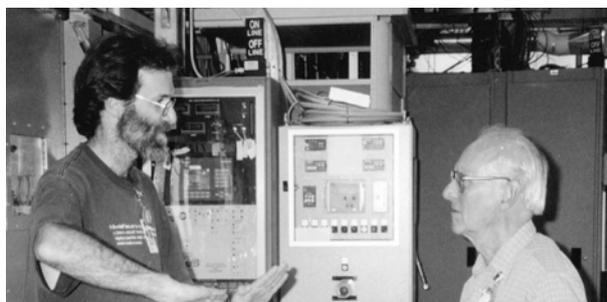


from left, Yulia, 筆者, Pieter, and Vittal at APS

に関する情報が得られる。また、Extended X-ray Absorption Fine Structure (EXAFS) 領域は、Mn 近傍に存在する原子の結合距離や、配位数に関する情報を与える。

実験には放射光施設の使用が不可欠で、硬 X 線が使いやすいスタンフォード大の放射光施設 (SSRL)、LBNL に付属の Advanced Light Sources、そしてシカゴ近郊の Advanced Photon Sources を目的に分けて使用している。

PS II の結晶構造は、この 4、5 年の間に 3.8-3.0 Å の分解能で報告されている(2-4)。一連の結晶構造解析からは PSII の分子レベルでの構造が明らかにされつつあり、特に多波長異常散乱実験では、OEC クラスターが  $Mn_4+Ca$  からなることをあらためて証明している。一方で、Mn クラスターとその周辺のリガンドの構造に関しては、高分解能結晶構造解析に必要とされるような高 Flux の X 線源を用いた場合、放射線損傷を受けてその酸化状態および化学構造が容易に変化することがわかっている(5)。PSII の場合、損傷によって結晶性に影響が出るよりもずっと前の段階で Mn クラスターへの影響が現れる。これは水を多く



Matthew and Ken at SSRL

含む金属タンパク質結晶に共通の問題であり、損傷を受けやすいペプチド側鎖や金属クラスター部分のX線構造に関しては特に注意が必要である。2世代から3世代の放射光施設へとX線源が強くなる一方で、迅速な検出機能を備えた検出器の開発がそれほど進んでいないことも原因の一つといえる。

一方、一連の結晶構造解析によって、PSII 単結晶を XAS や EPR (Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy) などの分光手法を用いた偏光特性研究に応用することが可能になった。我々の研究室では、Mn クラスターが X 線による損傷を受けないような低 Flux の範囲内で単結晶 XAS スペクトルを測定し、その偏光特性から Mn クラスターの構造と分子内における配向方向を求めようという試みをここ数年行っている。Fig.1 に実験装置の概略を示した。放射光 X 線は直線偏光性を持っている。この特徴を生かし、クライオスタット内に配向した結晶から偏光 EXAFS スペクトルを測定した。同時に、結晶回折像を

imaging plate によって測定し、結晶の正確な配向方向を決定した。このようにして MnEXAFS の偏光特性と結晶構造解析によって得られている分子配向をもとに、分子内で Mn クラスターがどのように配向しているかを調べることができる。詳細なデータ解析は現在進行中である。

また、OECの各S状態の転移( $S_0 - S_1 - S_2 - S_3$ )に伴って起こる微細な構造変化を研究するため、Ge(333)結晶のブラッグ反射を利用した高分解能スペクトロメーターを使って、MnEXAFSの距離分解能を上げる試みを行っている (Fig.2)。タンパクなどの希薄な系のEXAFS測定においては、通常半導体検出器を使って特定の蛍光X線のみを取り出す蛍光X線検出法が用いられる。MnK吸収端の場合、 $K\alpha$ 蛍光線を検出に用いる (Fig.2a,b)。しかし、現在の半導体検出器はエネルギー分解能が150から200 eVとそれほど高くないため、例えばPSIIのようなFeを常に含む系のMnEXAFSを測定する場合、Feからの蛍光X線の寄与

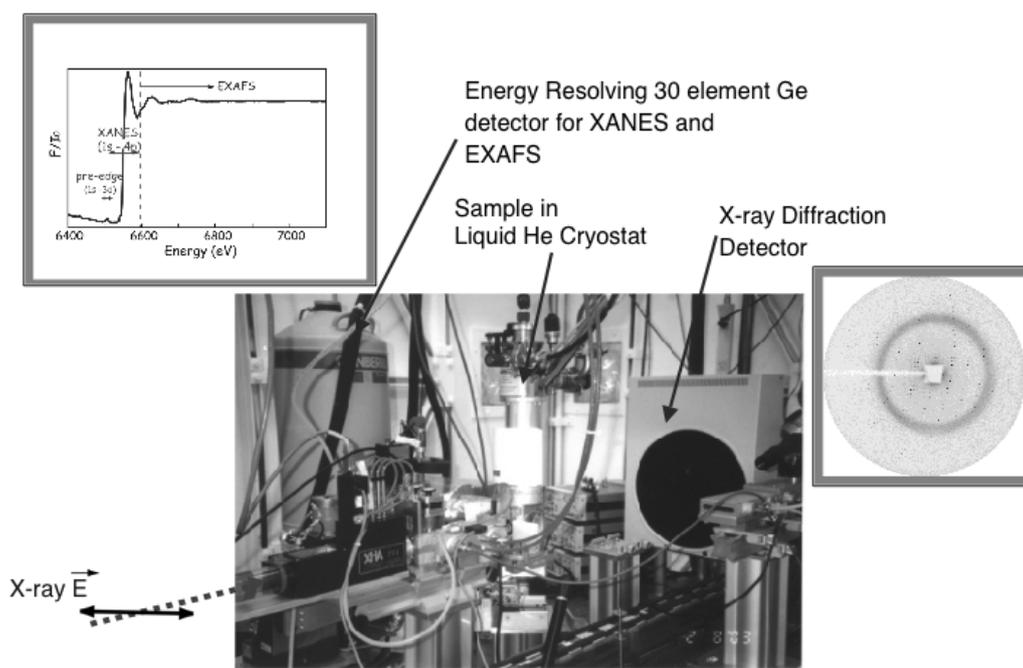


Fig.1 Experimental setup for single crystal XAS

を完全に排除することはできない。よって従来の蛍光測定法では、7120 eV付近に Feに由来する弱い吸収端が常に観察された(Fig.3)。このため、PSIIの MnEXAFSは 7100 eVまでしか測定出来ず、この測定範囲(6560-7100 eV)を分解能に換算すると 0.14 Å (分解能  $\Delta R = \pi/2k_{\max}$ ,  $K_{\max} = 11.5 \text{ \AA}^{-1}$ )である。この分解能は分子の化学的な構造を議論する上で十分とはいえない。そこで我々は、サンプルから検出器への経路に2次のモノクロメーターとして複数のGe(333)結晶を配置し、ブラッグ反射を利用してMnK $\alpha$ 線のみを検出器に導いてやることにより、Feの寄与を完全にのぞくことに成功した(Fig.2c)。このようにして、MnEXAFS (測定範囲：6560-7500 eV) の距離分解能

を 0.09 Å ( $K_{\max} = 15.5 \text{ \AA}^{-1}$ )まで改善することができた(Fig.3) (6)。

最後に、パークレーでの日々の生活の話に少しふれたい。UC Berkeley と LBNL は隣接しており、サンフランシスコ湾を望む高台にある。アメリカの研究施設のほとんどがそうであるように、研究者の多くは外国人でしめられていて、日本人研究者も多い。多くのアメリカの都市のイメージに反して、研究所や大学から歩ける距離にすむことができる。そして歴史から、リベラルな考えを持つ人が多い。また、質のよいコーヒー豆が手に入ることは私にとって非常に大切である。

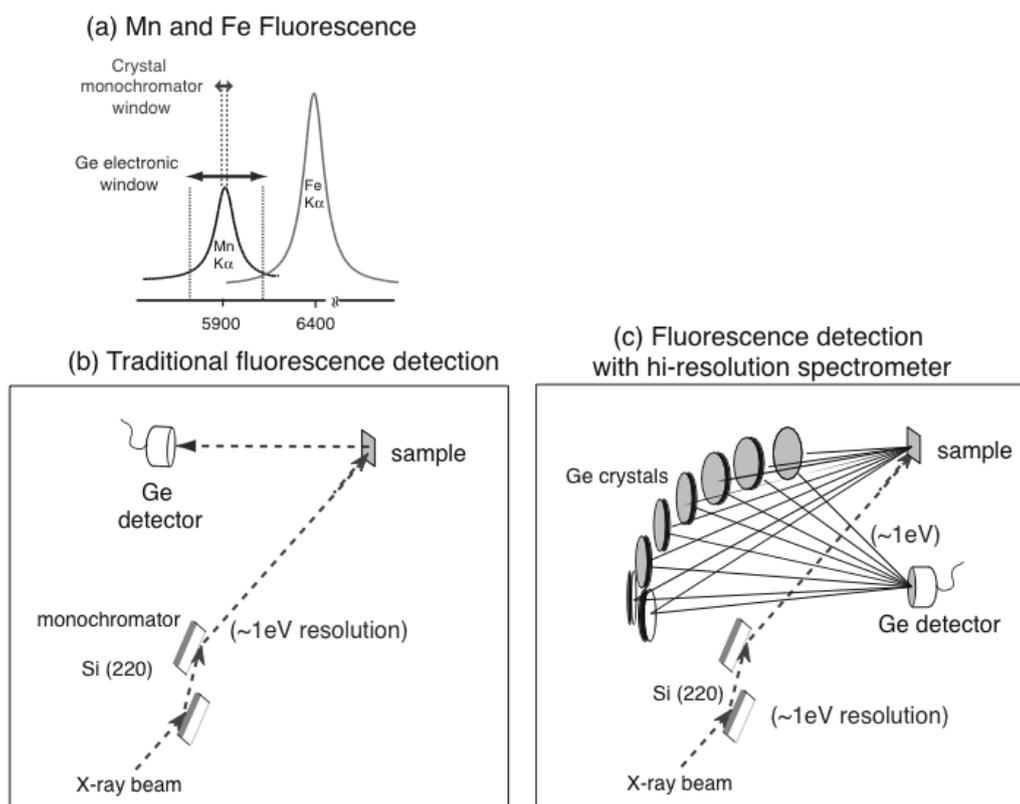


Fig.2 (a) A schematic representation of the fluorescence detection scheme. The fluorescence peaks broadened by the Ge detector with 150-200 eV resolution are shown. The multicrystal monochromator with 1 eV resolution is tuned to the K $\alpha$ 1 peak. (b, c) Two figures show the schematics for the conventional fluorescence detection, and the fluorescence detection with crystal monochromator used in a backscattering configuration.

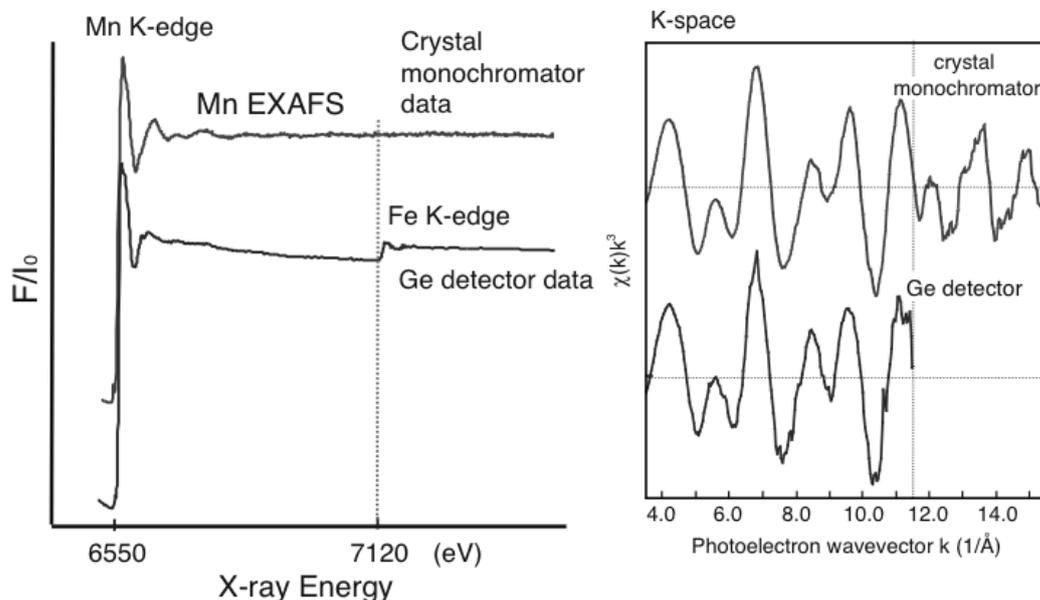


Fig.3 The PS II Mn K-edge EXAFS spectra from the  $S_1$  state sample obtained with a traditional energy-discriminating Ge detector compared with that collected using the high-resolution crystal monochromator. Fe present in PS II does not pose a problem with the high-resolution detector (the Fe edge is marked by a vertical line at around  $11.5/\text{\AA}$ ).

パークレーに住んで一番味気なく思うことは、四季の変化に乏しいことだ。このような不平を述べると、毎日天気がいいのだから良いではないかと言われる。しかし、やはり夏は暑く、冬は寒いのがいい。こういった気候のせいで、何かを待ち望む感覚が薄れていくような気がする。一方で最も魅力的なことは、いろいろな面で刺激が多いことだ。先に述べたように、研究者のほとんどが外国人であるため、昼食時は自然に政治やそれぞれの国の文化の話題になる。特に政治の話題になると、日本と他の国々の問題など、時にはつらい立場に立たされることもある。しかし、それは日本にいたときは経験することのなかったとても貴重な体験である。相手の立場にたって考えろ、という子供の頃からうるさく言われ続けたことを誰もが実行すれば、世の中もっとましになるはずである。愛国心とはいいたくないが、愛“文化”心は大切にしたいと思う。最近尺八を習い始めた。アメリカ人の先生から、日本文化の奥深さを教えられている。

## References

- 1) Yachandra, V. K.; Sauer, K.; Klein, M. P., *Chem. Rev.* 1996, 96, 2927.
- 2) Kamiya, N.; Shen, J. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003, 100, 98.
- 3) Ferreira, K. N.; Iverson, T. M.; Maghlaoui, K.; Barber, J.; Iwata, S., *Science* 2004, 303, 1831.
- 4) Loll B.; Kern, J.; Saenger, W.; Zouni A.; Biesiadka, J., *Nature*, to be published.
- 5) Yano, J.; Kern, J.; Irrgang, K.-D.; Latimer, M. J.; Bergmann, U.; Glatzel, P.; Pushkar, Y.; Biesiadka, J.; Loll, B.; Sauer, K.; Messinger, J.; Zouni, A.; Yachandra, V. K., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005, 102, 12047.
- 6) Yano, J.; Pushkar, Y.; Glatzel, P.; Lewis, A.; Sauer, K.; Messinger, J.; Bergmann, U.; Yachandra, V., *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 14974.