

電子輸送蛋白質の電荷移動反応誘起コヒーレント振動



研究ノート

岡田 正*

Coherent Vibration Induced by a Charge Transfer Reaction in Plastocyanin

Key Words : femtosecond dynamics, plastocyanin, reaction induced vibration

1. はじめに

液体中の反応をあたかも観てきたように想像してみる。電子移動や陽子移動反応，異性化反応，化学結合の組み替えなどの決定的な瞬間は一瞬であり，そこでは反応系の分子振動や周囲の溶媒の振動あるいは集団的な運動(コレクティブモード)と関係して反応は進行していると予想される。したがって，多くの分子振動や揺らぎの中から反応と相関している振動を抽出することができれば，反応過程の具体的なイメージ作りに大いに役立つと考えられる。安定したフェムト秒レーザーを使った様々な分光法が開発されたことで，溶液内での化学反応系や蛋白質の挙動が直接観測できるようになり，微視的なレベルで明らかになりつつある。私たちの研究室では，溶液中の化学反応初期過程の機構を分子レベルで明らかにすることを目指している。具体的には，溶液の特徴を知るために融解過程の分子運動の変化を調べること，溶媒和のダイナミクスを明らかにすること，光解離した後の溶媒ケージ内反応過程を調べること，反応と振動との相関を調べることなどである。この小文では，電子輸送蛋白質であるプラストシアニンの活性部位の反応と強く結合した骨格振動に関する最近の研究について紹介する。

蛋白質における電子移動反応ではその揺らぎを巧

みに利用して効率的な反応を行っていると考えられている。しかし通常の生理条件下の反応ではそうした揺らぎは平均化されてしまい散逸的な緩和過程だけが観測されるため，どのような蛋白質のモードが鍵を握っているか調べることは困難である。超高速レーザーを用いた反応の追跡では系のコヒーレントなモードを励起できるため，こうした反応に関与した重要な非散逸的なモードを観測できる可能性がある。

2. プラストシアニン

プラストシアニンは，光化学系IIのCytochrome *b6-f*複合体から光化学系Iへ電子伝達をする2価のブルー銅蛋白質である。活性部位には，銅(II)イオンとそれに配位結合している4つのアミノ酸残基があり，そのうち2つはシステインとメチオニンのS原子で，残り2つはヒスチジンのN原子である。生理条件下の電子伝達は銅イオンからシステインのS原子を経由している。構造はひずんだ4面体構造をしており，通常の銅(II)錯体と比較すると，蛋白質の骨格によって構造が強制的にねじ曲げられている。このためシステインのS原子と銅イオンとの間に共有結合性が増し，比較的強い配位子-金属電荷移動(LMCT)による吸収帯が600nm付近にあらわれる。この電荷移動はS配位子と銅イオンの結合を通して起こるので，レーザー励起によるLMCT状態から基底状態へ緩和する過程を調べることにより，蛋白質のダイナミクスを伴う電子移動機構について知見を得ることができると考えた。

3. フェムト秒分光

実験は自作のキャビティダンプしたパルス幅30fsのCr: Forsteriteレーザーの第2高調波を用いてプラストシアニンのLMCT帯を励起し，蛋白質のダ

* Tadaki OKADA
1939年12月4日生
1965年大阪市立大学大学院理学研究科
物理学専攻修士課程修了
現在，大阪大学大学院・基礎工学研究
科・化学系専攻，教授，工学博士，
物理化学
TEL 06-6850-6240
FAX 06-6850-6244
E-Mail okada@chem.es.osaka-u.
ac.jp



イナミクスによって引き起こされるコヒーレントな振動と電子移動のポピュレーション・ダイナミクスを観察した。

室温におけるプラストシアニンのポンプ・プローブ測定の実測結果とモデル関数を仮定してフィッティングを行った結果を図1に示す。

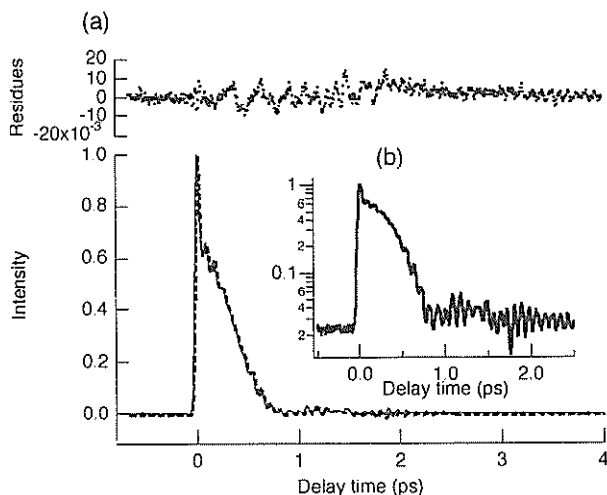


図1 (a) ポンプ・プローブ信号(実線)とフィッティング結果(破線)
(b) 信号強度の対数表示

一般に、ポンプ・プローブ信号には以下の情報が含まれる。(1)コヒーレントに励起されたラマンモードによる振動、(2)励起状態の吸収、(3)励起状態からの誘導放出、(4)基底状態における熱平衡状態への緩和、(5)測定系に特有な現象。これまでの研究から図1には(2)と(3)は含まれていないことが判っている。図1(b)に示した信号強度の対数表示から判るように振動の重なった急速に減衰する信号と1ps程度の遅い減衰振動が含まれている。急速に減衰する信号は、その曲率が正になっているので単なる指数関数成分でフィッティングすることはできない。この信号を3つのモデル関数の和で解析した。(1)散逸的な緩和過程による指数減衰関数、(2)慣性応答によるGauss関数、(3)コヒーレントな振動モードである指数関数で減衰する振動関数である。その結果、約270fsで減衰する基底状態の緩和とラマンモードおよび系に特有な現象と考えられる急速にダンプする低周波振動モードが観測された。この低周波振動モードは 33cm^{-1} の振動数を持ち、約360fsで減衰する振動である。しかもその位相は他のラマンモードと比較して120度ほどずれている。

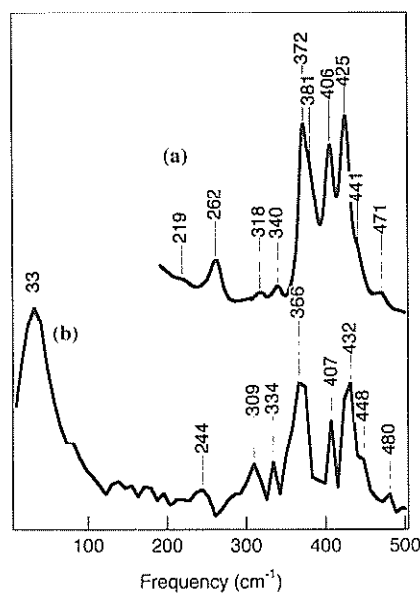


図2 (a) プラストシアニンの607 nm 励起の共鳴ラマンスペクトル
(b) ポンププローブ信号のフーリエ変換

振動成分をフーリエ変換したスペクトルを図2に示す。

(a)はLMCT吸収帯励起で測定した共鳴ラマンスペクトルである。 300cm^{-1} から 450cm^{-1} 付近のモードは銅イオンとシステインのSとの伸縮振動にシステインの変角振動が混ざり合って分裂したもの、 260cm^{-1} 付近のモードは銅とヒスチジンのNの間の伸縮振動に帰属されている。(b)のフーリエ変換したスペクトルの 200cm^{-1} 以上の振動領域が共鳴ラマンスペクトルに一致していることがわかる。プラストシアニンでは活性中心周りは比較的単純な構造をしており、上記の同定された振動モード以外で活性中心に局在化したモードはないと考えられる。実際今回測定されたポンププローブ信号でもこの近辺のモードがよく再現されていることから、今回観測された高波数モードはラマン過程によるもので、活性中心に局在化したモードは反応とはさほど強く結合していないと考えられる。

次に低振動の 33cm^{-1} のモードの由来について考えてみる。上で述べたようにこれは活性中心に局在化したモードではない。また振動数からもある程度広い範囲に非局在化したモードであると考えられる。共鳴ラマンの励起プロファイルの実験からこのLMCTバンドに関して、銅中心から少なくとも 20\AA 離れたところの残基の構造の違いが強く結合し

ていることが示唆されている。また、分子動力学計算によるシミュレーションからもこの遷移と生理条件下での電子移動経路上の蛋白質の振動モードが強く結合していることが示されている。これらの点を考慮するとこのモードは蛋白質の骨格振動と考えることが妥当であると言える。現在まで、いくつかの蛋白質でこうしたコヒーレントなモードが見いだされてきているが、いずれもポルフィリンや、ロドプシンと言った発色団のモードであり、蛋白質自体が反応と結合してコヒーレントに振動することを見いだした例はない。

電荷移動反応と結合したコヒーレントな振動モードが現れた原因を考えてみる。通常、溶液などランダムな系での化学反応では反応系と活性錯合体は平衡状態にあり、生成系への緩和は散逸的になる。すなわち、反応系から活性化状態への励起は溶媒のゆらぎなどランダムな過程を通じて起こり確率論的であり、この様な緩和は指数関数的な振る舞いをする。今回観測されたプラストシアニンでの電荷移動反応でコヒーレントなモードが観測されたことはこうした散逸的な現象以外のことが含まれていることを示している。光励起によって作られた励起状態(電荷移動状態)のポテンシャル上での振動コヒーレンスは、通常であれば様々な揺動を受けてそのコヒーレンスを失うのであるが、この系の場合、コヒーレンスを保ったまま基底状態(電荷が再結合した状態)に至る。そこで、蛋白質の骨格振動による反応座標が、電荷移動反応と非常に強く結合しているため、コヒーレンスが保たれた振動が観測されたと考えている。実際、この低振動モードの位相は他のラマン過程による振動モードと異なり、位相が120度シフトして

おり、反応によって誘起されたようなコヒーレンスであるといえる。また、ここでは触れなかったが、信号の偏光異方性の測定結果や波長分解を行った測定結果も上記の描像を支持している。

今回の実験結果は蛋白質がその反応を促進させるような特定のモードを持っていることを実験的に示したと考えられる。また、こうした振動のコヒーレンスが化学反応(電荷移動反応)に伴って観測されたとすると初めてである。現在、このような現象がブルー銅蛋白質で一般的に観測されるものかどうかを明らかにすること、および、温度変化や励起波長効果など更に詳しい研究を行い、今回提案したモデルの検証を進めている。

紹介した研究は、文部省の特別推進研究で行っている研究の一部であり、分担者である助手の中島聡博士、長澤裕博士を中心に進められている。プラストシアニンは高妻研究室(茨城大生物)との共同研究である。

文 献

1. S. Nakashima, K. Seike, Y. Nagasawa, T. Okada, M. Sato, and T. Kohzuma, "Ultrafast Anisotropy Measurements on Charge Transfer Dynamics in Plastocyanin." *J. Chinese Chem. Soc.*, 47, 693-697, 2000
2. S. Nakashima, K. Seike, Y. Nagasawa, T. Okada, M. Sato, and T. Kohzuma, "Coherent Protein Dynamics in Ultrafast Charge-Transfer Reaction in Plastocyanin." *Chem. Phys. Lett.*, 331, 396-402, 2000

