

1. はじめに

緑色植物では一般的にクロロフィル (Chl) *a* と Chl *b* が葉緑体チラコイド膜内の蛋白質に固定されており、そのスペクトル的な特性を生かして大部分は集光性分子として機能し、光合成で最も重要な役割を担っている。一方、マメグンバイナズナ (*Lepidium virginicum*) には水溶性の蛋白質と Chl が結合した水溶性クロロフィル蛋白質 (CP663) が存在する[1]がその機能は現在も不明である。最近、X線構造解析により CP663 の構造 (図1) が明らかにされ[2]次の様な事がわかっている。

- ①分子量 19kDa のサブユニット四つからなる。
- ②各サブユニットは一つの Chl を含む。
- ③各 Chl はサブユニットの中心ではなく端に位置して相互作用が可能となる配置である。
- ④Chl は二つずつ Sandwich 型の対を成してその対同士はほぼ直角に配列されている。
- ⑤全ての Chl の Mg にはプロリン主鎖カルボニル基の酸素原子が配位している。

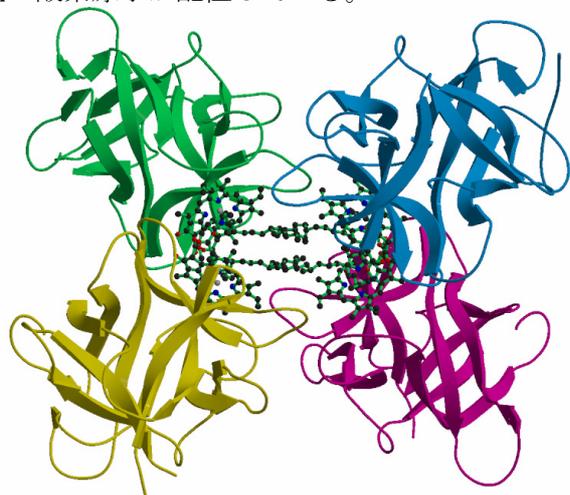


図1 CP663 の構造

また、CP663 の Chl 対は Chl *a*, *b* の二種類から構成されているが、Chl *a*, *b* がランダムにフォールディングされているため Chl 対の組成、すなわち、(*a-a*), (*b-b*), (*a-b*) の存在比は X 線構造解析では求められない。

本研究では Chl 対に対して分子軌道法計算を行い、構造-スペクトル相関を調べる事によって、CP663 の吸収スペクトルを再現すること、Chl 対の組成を明らかにすることを目的とした。

2. 実験

2.1 分子モデルの作成

CP663 の分子モデルは X 線構造解析のデータをもとにして作成した。CP663 から Chl 及びその配位子 (全てプロリン) のみからなる Chl 四量体を取り出し、さらに Chl 対に分割したモデルを用いた。分割した Chl 対を便宜的に X タイプ (XT)、Y タイプ (YT) と呼ぶ事にした。Chl *a* と Chl *b* の区別はできないので、各 Chl 対で考えられる全ての組み合わせ (すなわち *a-a*, *a-b*, *b-a*, *b-b*) を X, Y 両タイプに与え、計 8 個の Chl 対モデルを作成した。(図3)

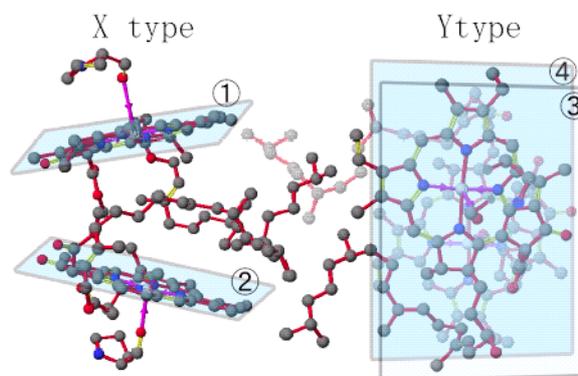


図2 Chl 四量体

X 線構造解析で得られた原子の座標を空間的に固定した。ただし、水素原子の座標及び Chl *b* のピロール環 II に結合しているカルボニル基の酸素 (図3 赤字部分) の座標についてはこの限りでない。また原子数を抑えるためフィチル側鎖をメチル基で置き換えた。

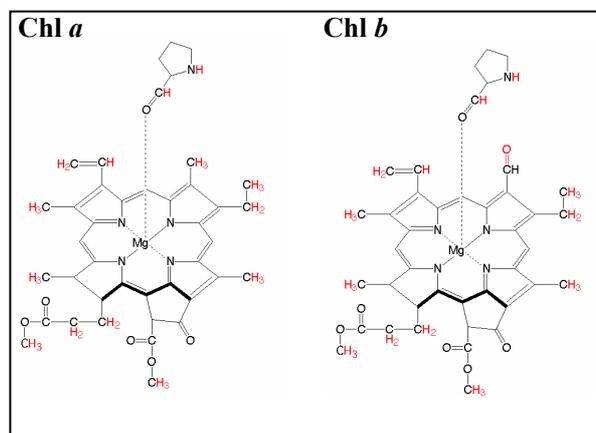


図3 計算に用いた Chl の分子

2.2 電子遷移

作成した各Chl対に対しMM2分子力場法を用いて構造最適化し、さらにその構造に対してZINDO法により電子遷移エネルギーと振動子強度を計算した。その結果を表1に示す。

表1 計算結果

| Chl pair | Excitation Energy /cm ⁻¹ | Oscillator Strength |
|---------------|-------------------------------------|---------------------|
| XT <i>a-a</i> | 14,285 | 0.07 |
| | 14,727 | 0.55 |
| XT <i>a-b</i> | 14,427 | 0.17 |
| | 15,049 | 0.38 |
| XT <i>b-b</i> | 14,823 | 0.07 |
| | 15,190 | 0.42 |
| YT <i>a-a</i> | 14,170 | 0.05 |
| | 14,600 | 0.57 |
| YT <i>a-b</i> | 14,323 | 0.17 |
| | 14,947 | 0.39 |
| YT <i>b-b</i> | 14,725 | 0.05 |
| | 15,071 | 0.43 |

ホモ(*a-a*, *b-b*)のみならずヘテロ(*a-b*)のChl対においてもQy帯の電子遷移は二つに分裂し、高エネルギー遷移の方が振動子強度は大きくなった。これは二量体に対する励起子理論[3]からの予測と一致している。点状双極子近似によりChl-Chl間の励起子相互作用を求めると、*a-a*が190 cm⁻¹、*b-b*が150 cm⁻¹、*a-b*が80 cm⁻¹ となり、ヘテロの相互作用はホモに比べて約1/2である事が示された。

2.3 カーブフィッティング

77 K の剛性溶媒(リン酸バッファー：グリセリン=1:1)における CP663 の吸収スペクトルを図4赤丸で示す。この実測スペクトルに対するカーブフィッティングの方法は以下のとおりである。

- ①実際の Chl 対の環境を反映させるため計算値を全て 400–600 cm⁻¹ レッドシフトさせた。
- ②電子遷移をガウス型曲線で肉付けした。その時の曲線の半値幅は、*b-b* は 400–500 cm⁻¹、*a-a* は 300–400 cm⁻¹、*a-b* は 330–480 cm⁻¹ とした。このようにして得られた各吸収バンドをクロロフィルフォームと呼ぶ。
- ③各クロロフィルフォームの面積を調整しながら実測のスペクトルの再現を行った。ただし、この時同じ Chl 対においては、振動子強度の比は一定に保った。
- ④最後に、XT と YT の Chl 対の数は等しいか、クロロフィル *a/b* 比が文献値の 1.5–2.0 の範囲内に収まっているかを確認した。もしその範囲に収まっていない時は、再度①-④を繰り返した。

こうして得られた再現スペクトルを図4(青点線)に示す。

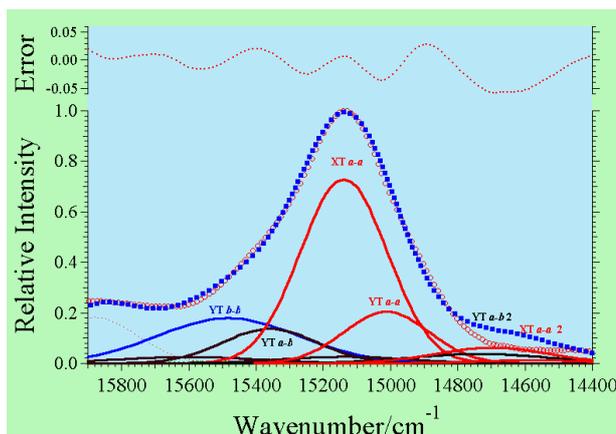


図4 カーブフィッティングの結果

カーブフィッティングで得られたスペクトルと実測スペクトルとを比較すると、概ね一致している。14,700 cm⁻¹ 付近で、計算値が実測値よりも多少大きくなっているが、これは今回の計算では媒質、特にその誘電率を考慮してない事に起因していると思われる。図で示した計算スペクトルでは Chl *a/b* 比が 1.82 であり、これは実測値 1.83 に極めて一致している。

3. まとめ

Chl 対の存在量の内訳は、*a-a* を 1 とすると、*a-b* は 0.3、*b-b* は 0.5 と見積ることができる。すなわち、CP663 中の Chl 対はホモばかりでなく、ヘテロも約 20% 存在していると予想される。以上より、WSCP に対して分子軌道法計算を適用することにより、吸収スペクトルの再現、Chl 対組成の予測を行うことができた。

参考文献

- [1] H. Satoh, A. Uchida, K. Nakayama, M. Okada, *Plant Cell Physiol.* 42 (9), 906-911 (2001)
- [2] A. Uchida, D. Horigome, T. Sasaki, E. Meguro, S. Kaneko, N. Ito, H. Satoh, I. Oonishi Abstracts of XIX Congress & General Assembly of The International Union of Crystallography vol.1, 119-120 (2002)
- [3] H. Amerongen, L. Valkunas, R. Grondelle, The exciton concept. In *Photosynthetic Excitons*, 50-62. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. press, Singapore. (2000)