# 化学反応における対称性の破れの理論(14) PSIIのOECにおけるS<sub>3</sub>-[S<sub>4</sub>]-S<sub>0</sub>遷移過程の XFEL実験結果と酸素--酸素結合反応の動的機構

山	П		兆* <sup>1, *5, *6</sup>	宮	Ш	晃	*2
庄	司	光	男* <sup>2</sup>	磯	部		寛 <sup>*3</sup>
Л	上	貴	資 <sup>*4,*6</sup>	中	嶋	隆	人*6



\*山口 兆 元フェロー

Theoretical Investigations of Time-resoved SFX XFEL and FTIR Experiments of the S<sub>3</sub>-[S<sub>4</sub>]-S<sub>0</sub> Transition and the Mechanism of the O-O Bond Formation in the OEC of PSII

Kizashi YAMAGUCHI<sup>\*1, \*5, \*6</sup>, Koichi MIYAGAWA<sup>\*2</sup>, Mitsuo SHOJI<sup>\*2</sup>, Hiroshi ISOBE<sup>\*3</sup>, Takashi KAWAKAMI<sup>\*4, \*6</sup> and Takahito NAKAJIMA<sup>\*6</sup>

Recent time-resolvled (TR) SFX-XFEL experiments for microcrystal of cyanobacteria have provided snapshots for time-dependent variations of the biosystems structures in the  $S_3 \rightarrow [S_4] \rightarrow S_0$  transition in the oxygen-evolving complex (OEC) of photosystem II (PSII). Recent TR-FTIR experiments for spinach combined with the theoretical modeling have also provided the spectroscopic results responding for proton-transfer and oxygen evolution in the water oxidation. These experiments have provided indispensable information to elucidate possible mechanims of the O-O bond formation and molecukar oxygen evolution through the invisible final transition state "S4" of the Kok cycle for water oxidation. On the other hand, theoretical and computational investigations have elucidated that timing of the one electron transfer (OET) from the CaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub> core to Tyr161-O• radical in the transition is a key factor for understanding and explanation of the possible mechanims for the water oxidation in OEC of PSII. The TR SFX-XFEL experiments have revealed that the OET and O-O bond formation reactions occur in an almost parallel manner in the  $S_3 \rightarrow [S_4] \rightarrow S_0$ transition within 730-1200  $\mu$ s and the O<sub>2</sub> evolution starts around 1200  $\mu$ s after the third flash in the cyanobacteria. Other theoretical computations and TR-FTIR experiments have proposed the O-O bond formations before or after the OET. The formation of the high-valent Mn(V)=O (or  $\cdot$ Mn(IV)-O $\cdot$ ) oxo bond is formally formed after 2500  $\mu$ s by TR-FTIR for spinach. The nature of the chemical bonds in the possible transition structures revealed by the HDFT calculations is also revisited in relation to the mechanims of water oxidation in OEC of PSII.

#### 1. 序 音

本シリーズでは(1)式に示した太陽光を用いた天然光 合成システムPSII (photosystem II) における水の分解 反応機構を電子、原子レベルで解明するために、その酸 素発生触媒サイト (oxygen evolving complex; OEC) にあるCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターの分子・電子・スピン構造 を詳細に検討し、その周辺の水素結合ネットワーク構造 なども解析し、さらに水挿入経路やプロトン放出経路な どを特定することにより, 天然光合成反応の学理解明を 進めてきた.<sup>1)</sup>

- \*2筑波大学計算科学研究センター
- \*3岡山大学異分野基礎科学研究所
- \*4大阪大学理学研究科
- \*5大阪大学量子情報・量子生命研究センター
- \*6理化学研究所計算科学センター

$$2H_2O + 4hv \rightarrow 4H^+ + 4e^- + O_2 \tag{1}$$

本シリーズで解説してきたようにPSIIにおける水分解反 応はKokサイクル<sup>2)</sup>と称される5段階S<sub>i</sub>(i=0~4)の反 応プロセスで進行することが判明している.近年So~S3 状態における中間体の分子構造や結晶構造の解明を目的 としてX線構造解析 (X-ray diffraction; XRD) 法<sup>3,4)</sup>やX 線自由電子レーザー (X-ray free electron laser; XFEL) を使用した時間分割(time-resolved; TR)連続フェム ト秒結晶構造解析(serial femotosecond X-ray crystallography; SFX)<sup>5-9)</sup>法, TR fourie transform infrared spectroscopy (FTIR)<sup>10,11</sup>法を用いた研究が進展している. 昨年の研究報告(13)<sup>1)</sup>で紹介したように, TR SFX-XFEL<sup>5-9)</sup>実験はPSIIのOECのS<sub>2</sub>およびS<sub>3</sub>状態における CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスター周辺の水素結合ネットワークなど の分子システム構造の常温での変化も解明した. その結

<sup>2024</sup>年2月6日 受理

<sup>\*1</sup>豊田理化学研究所元フェロー

果,  $S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_3$ 状態の遷移に伴う分子システム構造変 化が明らかになり(1)式に示した水の反応サイトへの 挿入経路や水分解で生成したプロトンの放出経路に関す る重要な構造情報が得られることになった.さらに,昨 年5月には水分解反応の最終段階である $S_3 \rightarrow [S_4] \rightarrow S_0$ 状態遷移の酸素発生反応過程に関するTR SFX-XFEL実 験による中間体の動的構造変化<sup>8)</sup>とTR-FTIR(赤外分光) 実験によるプロトンおよび酸素分子放出時系列変化<sup>11)</sup>が Nature 誌に発表された.このように,2023年には酸素 一酸素結合形成や酸素発生過程に関する動的構造や時間 情報が得られることになり,水分解反応の動的反応機構 を電子・原子レベルで解明する新しい時代が到来したと 言えよう.本稿ではこれらの実験結果<sup>8,11)</sup>の紹介を含め て,水分解反応機構の学理解明についての最近の進展状 況を紹介する.

#### 2. S<sub>3</sub>状態の理論計算モデル再訪

2.1. S<sub>3</sub>状態における CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub> クラスターモデルの構築 昨年の研究報告(13)<sup>1)</sup>ではPSIIのOECの蛋白場に埋 め込まれたCaMn<sub>4</sub>O<sub>x</sub>クラスターに連結する水素結合 ネットワークにより構成された生体分子システム構造を 紹介した.本稿では今回のTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>による S<sub>3</sub>→[S<sub>4</sub>]→S<sub>0</sub>遷移過程に於ける動的構造変化の理解を 容易にするために出発点にあたるS<sub>3</sub>状態における可能な 中間体構造を拡大226原子レベルでのQMモデルを用 い, UB3LYP-D3法で構造最適化を実行した結果<sup>12,13)</sup>の 紹介から始めたい. 図1に示すように、PSIIのOECに おける水分解触媒サイトに相当するCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスター では右 (Right; R) および左 (Left; L) 側が開いたキュ バン構造<sup>14)</sup>が可能であり、S<sub>i</sub> (i=0~4) 状態において変 動可能な部位, X(O<sub>(1)</sub>サイト), Y(W2), Z(W1), U(O<sub>(4)</sub> サイト)における水の酸化状態, O<sup>2-</sup>(=a), OH<sup>-</sup>(=b) およびH<sub>2</sub>O (= c) に応じて種々の中間体S<sub>iXYZU</sub>(R or L) (i=0~2) 構造が可能である. さらに, S<sub>2</sub>→S<sub>3</sub>状態遷移 過程では反応サイトに水(W)が挿入されるので<sup>13,14)</sup>, その状態に依存してS<sub>iXYZU</sub>(R or L)-Wで表現される種々 のS3中間体構造が可能である.表1にS3状態で可能なR



 図1 S<sub>3</sub>状態で可能な左側 (Left;L) および右側 (Right;R)の開いたCaMn<sub>4</sub>O<sub>x</sub> (R or L) に水 (W) が挿入された中間体の構造 最適化モデル,およびその水の酸化状態とPSIIの光励起電子 移動に伴い生成されたTyr161-O・ラジカルより構成された[S<sub>3</sub> + Tyr161-O•]系の概念図.<sup>13)</sup>

Table 1 S <sub>3</sub> 状態R型の可能な中間体の最適化構造. <sup>13)</sup>								
Types	Exp. <sup>b)</sup>	OH	$\mathrm{OH}_{\mathrm{glu}}$	Oxo	Oxyl	$\mathrm{OH}_{\mathrm{w}}$	Perox	
Mn <sub>1</sub> -Mn <sub>2</sub>	2.75	2.76	2.79	2.80	2.78	2.79	2.77	
Mn <sub>2</sub> -Mn <sub>3</sub>	2.86	2.86	2.85	2.82	2.83	2.85	2.81	
$Mn_3-Mn_4$	2.77	2.77	2.75	2.73	2.83	2.92	2.95	
$Mn_1$ - $Mn_3$	3.33	3.55	3.53	3.46	3.27	3.55	3.36	
$Mn_1$ - $Mn_4$	5.06	5.35	5.37	5.33	5.25	5.53	5.23	
Ca-Mn <sub>1</sub>	3.37	3.34	3.37	3.20	3.27	3.46	3.39	
Ca-Mn <sub>2</sub>	3.32	3.29	3.26	3.25	3.31	3.27	3.35	
Ca-Mn <sub>3</sub>	3.52	3.51	3.30	3.37	3.35	3.38	3.57	
Ca-Mn <sub>4</sub>	4.00	4.19	3.90	4.06	4.01	4.14	4.23	
$Mn_1-O_{(6)}$	1.79	1.80	1.80	1.67	1.72	1.82	2.14	
Mn <sub>3</sub> -O <sub>(5)</sub>	2.00	1.83	1.82	1.84	1.78	1.89	1.88	
Mn <sub>4</sub> -O <sub>(5)</sub>	2.22	1.82	1.81	1.79	2.09	2.00	2.26	
Ca-O(5)	2.60	2.85	2.56	2.67	2.55	2.61	2.97	
Ca-O <sub>(6)</sub>	2.49	2.53	2.45	2.36	2.45	2.59	2.36	
O <sub>(6)</sub> -O <sub>(5)</sub>	2.09	2.46	2.54	2.49	2.03	2.47	1.41	

<sup>a)</sup>The molecular structures of the water (W) inserted CaMn<sub>4</sub>O<sub>x</sub>-W S<sub>3</sub> intermediates are abbreviated as W in this table: OH =  $S_{3abca}$ -OH(R), OH<sub>glu</sub> =  $S_{3abca}$ -OH<sub>glu</sub>(R), Oxo =  $S_{3acca}$ -Oxo(R), Oxyl =  $S_{3acca}$ -Oxyl (R), and Perox =  $S_{3acca}$ -Peroxide(R). <sup>b)</sup>The experimental values were taken from PDB ID (6DHO) (Kern, *et al.*, 2018).

型の中間体の最適化構造における Mn-Mn, Mn-O, Ca-O 距離などをまとめた.<sup>12,13)</sup>

表1に示すようにTR SFX-XFEL実験<sup>7-9)</sup>により解明 されたS<sub>3</sub>構造はR型に対応することがわかる.一方,L 型の構造データはMn<sub>3</sub>-Mn<sub>4</sub>の距離が長くなるL型の特徴 を示す以外にはR型それと大きくは変化しないので本稿 では省略する.表1より,本稿で問題となるS<sub>3</sub>→[S<sub>4</sub>] → S<sub>0</sub>遷移過程で生成するS<sub>3</sub>中間体における構造最適化に よるO<sub>(5)</sub>-O<sub>(6)</sub>間距離はMn-hydroxide (W = OH<sup>-</sup>);S<sub>3abca</sub> (R)-OH),Mn-Oxo (W = O<sup>2-</sup>;S<sub>3acca</sub>(R)-O) 中間体では 約2.5Åであり,Mn-Oxyl (W = O•;S<sub>3acca</sub>(R)-O•) 中間 体では約2.1ÅであることよりS<sub>3</sub>状態では未だO-O結合 形成には(結合距離=約1.4Å)至っていないことがわ かる.本稿ではMn-Mn,Mn-O,Ca-O距離の詳細な検 討<sup>12,13)</sup>は紙数の都合で省略する.

図1に示したCaMn<sub>4</sub>O<sub>x</sub>クラスターは量子化学的には 図2に示すように電子間反発効果を無視できない強相関 電子系に属するので、その化学結合状態の本質解明には 4個の自由度;スピン(状態),電荷(Mn4の価電子構 造), 軌道 (Mn(Ⅲ)のJahn-Teller (JT) 変形効果), 分子 運動効果 (proton-shiftも含む動的構造),の詳細な検討 が必要となる.<sup>12-14)</sup> さらに, 触媒サイトCaMn<sub>4</sub>O<sub>x</sub>クラス ターはPSIIのOECを構成する蛋白場の中に埋め込まれ ており,研究報告(13)<sup>1)</sup>で紹介したように表在性蛋白質; PsbO, PsbU, PsbVで保護されている複雑分子システム である. 筆者らの使用しているHybrid-DFT (HDFT) 計算結果は厳密解ではないのでその妥当性はこれらの自 由度に関係する種々の分光実験(EPR, EXAFS, XES, FTIRなど)<sup>10,11,15,16)</sup>による実験結果との整合性の確認が 必要である.本稿では理論計算とこれらの実験結果を統 合することにより水分解反応の学理解明を目指したい.



図2 強相関電子系CaMn<sub>4</sub>O<sub>x</sub>に関する4個の自由度とそれらに関す る種々の分光実験,時間分割X線構造解析,理論計算のInterplayによる光合成水分解反応の学理解明.

# 2.2. S<sub>3</sub>状態における種々の中間体の相対安定性

表1に示したようにS<sub>3</sub>状態では幾つかの構造の異なる 中間体構造が可能であるが、その相対安定性は構築した OMモデルのサイズや計算法により変化する. 今回227 原子モデルを用いてUB3LYP-D3法<sup>17,18)</sup>で構造最適化し た3次元S<sub>3</sub>構造を用いて4種類の計算方法で相対安定性 を検討した.総合報告<sup>13)</sup>に示したようにS<sub>3</sub>状態で理論 的には可能な中間体の相対安定性はCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラス ターが強相関電子系に属する特徴を反映して、hvbrid-DFT (HDFT) 法<sup>17)</sup>を使用する場合には交換ポテンシャ ルに含まれる Hartree-Fock (HF) 項の割合 (w) に依存し て変化しうる. そこで通常のUB3LYP法の場合にはw= 20% であるがこの近似では電子反発(U)の項を過剰に 見積もる傾向にあるのでw = 15% (UB3LYP\*), w = 10% (UB3LYP\*\*) の場合も検討した. また, beyond-HDFT 計算の一例としてDLPNO-CCSD (T<sub>0</sub>) 計算<sup>19,20)</sup>による 結果も図3に示した.表2には他の近似法により求めた 計算結果もまとめた.<sup>13)</sup>図2に示したように, EPRや XESによる実験結果も計算結果の総合判断に使用した.

図3および表2よりS<sub>3</sub>状態ではWサイトにOHアニ オンが挿入されたOH基がO<sub>(5)</sub>サイトと水素結合しているS<sub>3abca</sub>(R)-OH構造および挿入されたOH基がGlu189の 酸素アニオンサイトと水素結合している $S_{3abca}(R)$ -OH<sub>glu</sub> 構造が,使用した方法に依存せず絶対零度では最も安定 であることが理解される.<sup>12,13)</sup>これらの構造ではMn イ オンの価電子構造は全て4価の(444)構造でありXAS, XES実験結果<sup>16)</sup>と整合している.さらに,低温EPR実 験<sup>21)</sup>による基底スピン状態は7重項(Septet;S=3)状態 であるが,これら中間体の理論計算も $\uparrow-\uparrow-\uparrow-↓$ 型のスピ ン構造<sup>12,22)</sup>を持つS=3状態であることより矛盾は無い. 一方,最新のTR SFX-XFEL実験<sup>8,9)</sup>では水素原子が見 えていないことを反映してWサイトに挿入された水分子 をO<sub>X</sub>あるいはO<sub>(6</sub>と表現し,O<sup>2</sup><sub>6</sub>とO<sub>(6</sub>)Hを識別しない 表記が使用されている.表1に示したようにO<sub>(5</sub>)-O<sub>(6</sub>の 室温における実測の距離<sup>8)</sup>は2.09Åであるが,理論計算 <sup>12,22)</sup>では上記のOH挿入構造では2.46,2.54Åとなって おり実測との整合性が悪いといえよう(5章で検討).

一方,表1より室温TR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>によるO<sub>(5)</sub>-O<sub>(6)</sub>距離(2.09 Å) に近い最適化構造<sup>12, 13, 23)</sup>はMn-Oxyl, S<sub>3acca</sub>(R)-O•構造である. 表2に示すようにこの構造の 相対安定性はHDFT法ではHF項の割合(w)に強く依存 しており電子相関効果に極めて敏感であることが理解さ れる. Mn-Oxyl構造の基底スピン状態は ↑-↑-↑-↑ 型の最 高スピン (HS) 状態 (S=6) であり ESR 測定<sup>24)</sup>では不活 性な構造に相当する. Mn-Oxyl構造は(4444)の価電子 構造を持つMn-hydroxideのO<sub>(6)</sub>Hからのproton-coupled electron-transfer (PCET) によりW2サイトにプロトン が移動し、Mn(IV)4サイトがMn(III)4に一電子還元された 構造に相当する. Mn-Oxyl構造は従来よりEXAFS測定 により提案されてきたS3状態での(4443)-O・構造に相 当する.<sup>16)</sup>しかし、この構造ではHS状態を反映してス ピンの非局在化が起こり実際には酸素原子上のスピン密 度は小さく (4444) に近いといえる.<sup>23)</sup> 一方, 興味ある ことに、DLPNO-CCSD (T<sub>0</sub>) 計算<sup>12, 13, 25)</sup>では左側の開  $V \gtrsim Mn-Oxo (S_{3acca}(L)=O), Mn-Peroxo ((S_{3acca}(L)=O))$ 構造も比較的安定であり今回取り扱っているシアノバク テリア以外の蛋白場によってはこれらの構造も形成され る可能性を示している.本稿ではシアノバクテリアの蛋



図3 HDFT および DLPNO-CCSD (T<sub>0</sub>) 計算による S<sub>3</sub> 中間体の相対安定性.<sup>12,13)</sup>

1able 2 S <sub>3</sub> 状態で可能な中间体のHDF1 およびDLPNO CCSD ( $1_0$ ) 法による相対女定性.								
Types/Methods <sup>a)</sup>	В3	B3*	B3**	B3***	* B3D3	B3*D2	B2P	DLPNO
S <sub>3abca</sub> (R)-OH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
$S_{3abca}(R)$ -OH <sub>glu</sub>	-3.49	-3.48	-3.44	-3.42	-1.32	-0.23	-0.74	1.32
S <sub>3abca</sub> (L)-OH	13.4	13.3	13.3	13.1	9.22	8.79	11.1	9.88
S <sub>3acca</sub> (R)-oxo	4.71	4.50	4.30	4.13	9.91	9.82	13.1	8.85
S <sub>3acca</sub> (L1)-oxo	7.06	6.44	5.78	5.09	9.84	8.76	11.6	3.97
S <sub>3acca</sub> (L2)-oxo	6.24	5.55	4.83	4.08	9.76	7.73	10.2	2.64
S <sub>3acca</sub> (R)-oxyl	2.33	6.19	9.65	12.5	11.6	17.8	16.0	13.1
S <sub>3acca</sub> (L)-oxyl	15.5	19.5	23.0	25.8	21.8	25.0	28.0	21.2
$S_{3bbba}(R)$ -OH <sub>w</sub>	3.89	3.89	3.90	3.89	4.28	5.99	9.73	11.5
$S_{3abba}(L)-H_2O$	15.5	15.3	15.0	14.8	7.97	7.55	12.8	7.16
S <sub>3acca</sub> (R)-peroxide	10.2	18.2	26.8	35.2	10.3	22.1	23.2	6.75
S <sub>3acca</sub> (L)-peroxide	10.5	18.6	27.1	35.5	10.6	21.5	23.0	3.90

Table 2 S<sub>3</sub>状態で可能な中間体のHDFT およびDLPNO CCSD (T<sub>0</sub>) 法による相対安定性.<sup>13)</sup>

<sup>a)</sup>The abbreviations of the method indicate B3 = B3LYP, B3\* = B3LYP\*, B3\*\* = B3LYP\*\*, B3\*\*\* = B3LYP\*\*\*, B3D3 = B3LYP-D3, B3\*D2 = B3LYP\*-D2, B2P = B2PLYP, and DLPNO = DLPNO CCSD ( $T_0$ ), respectively.

自場でかつ室温状態では<sup>8.99</sup>Mn-hydroxideとMn-Oxyl 構造の平衡状態が実現していると考えるのが図2に示し た $CaMn_4O_5$ クラスターの4自由度の視点と温度効果か ら判断して妥当であると言えよう.<sup>12,13,23,24,26,27)</sup> さらに, 後述するように, TR SFX-XFEL実験<sup>89</sup>で求められた比 較的実験誤差の少ない $Mn_3$ - $Mn_4$ 間距離から判断すると, Berkeleyグループによる $S_3$ 構造(2量体結晶のA構造) はMn-hydroxideがOkayamaグループの $S_3$ 構造はMn-Oxylが卓越していると考えられる.<sup>28)</sup> 実際, Berkeley グループのXES実験結果で<sup>16)</sup>は $S_3$ 構造の価電子状態は (4444)でありMn-hydroxideのそれに近いと言える.

# PSIIのOECにおける酸素--酸素結合 反応の動的基盤構造

# 3.1. TR SFX-XFEL実験による酸素--酸素結合反応の 動的構造変化の解明

過去数十年間, Kok サイクル<sup>2)</sup>の $S_3 \rightarrow [S_4] \rightarrow S_0$ 遷移過 程における酸素--酸素結合反応機構に対して種々の提案 が成されてきた.<sup>13,16)</sup> 今回のTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>はシ アノバクテリアの蛋白場に埋め込まれたCaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub>クラ スターで進行する種々の中間体の時間変化をThird Flash 後の数点 (250, 500, 730, 1200, 2000  $\mu$ s) で観測した結 果である. その結果判明した時間依存構造変化を (2)-(7) 式にまとめた. これらの実験結果<sup>8)</sup>を理論的に解釈 するために表1に示した数多くの可能なS<sub>3</sub>構造の中か らThird Flashにより生成した初期S<sub>4</sub>状態の構造を[S<sub>3</sub> + Tyr161-O•]とし, S<sub>3</sub>構造を最安定成分のS<sub>3abca</sub>(R)-O<sub>(6</sub>H と仮定して, Berkeley グループのTR SFX-XFEL実験結 果<sup>8,16)</sup>を解析して見よう.

TR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>によればThird Flash後最初の50– 100 µsの間に観測される構造変化はP680カチオンラジ カルへの一電子移動により誘起されるTyr161-OH周辺 の構造変化であることよりその酸化によるTyr161-O・ ラジカルの生成であると帰属される. 
$$\begin{split} S_{3abca}(R) &- O_{(6)}H + Tyr161 - OH + His190 \\ &\rightarrow S_{3abca}(R) - O_{(6)}H + Tyr161 - O\bullet + H^{+}His190 + e^{-} \end{split}$$
 (2a)

$$P680^+ + e^- \rightarrow P680 \tag{2b}$$

この初期過程でHis190は(2a)式に示すようにBaseとしてH<sup>+</sup>を格納している.一方,放出される電子は(2b)式に示すようにP680カチオンラジカルの還元に使用されている.

次に250–500 (730)  $\mu$ sの間に観測されるのはS<sub>3</sub> → [S<sub>4</sub>] → S<sub>0</sub>遷移で起こる第1番目のプロトン放出 (First Proton Release (FPR)) である. この過程の詳細に関し てはTR-FTIR<sup>11)</sup>実験結果があるが,本稿ではまずMn<sub>4</sub> サイトに配位しAsp61と水素結合している水 (W1) の 脱プロトン化であると仮定する.<sup>13)</sup>

$$S_{3abca}(R) - O_{(6)}H + Asp61$$

$$\rightarrow S_{3abba}(R) - O_{(6)}H + H^{+}Asp61(FPR)$$
(3a)

研究報告 (13)<sup>1)</sup>で紹介したように Asp61 は Proton Release Pathway (PRP) Iと連結しているアミノ酸残基であり後 述するようにプロトン放出機構との関連で極めて重要な 残基である.<sup>3,15)</sup>

第3番目に観測されるのは、(2)式で生成したTyr161-O•( $Y_z$ ) ラジカルへの一電子移動(一電子還元)である がTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>では比較的長く500–730–1200  $\mu$ sの間に起こると結論されている.このように $S_4$ 状態 の初期過程で $Y_z$  ラジカルの寿命が他の状態に比較して 長いので後述するように電子移動のtimingには種々の実 験結果より3種類の仮説が可能となる.<sup>12,13)</sup>

$$X + Tyr161-O \bullet + H^{+}His190$$
  

$$\rightarrow X^{+} + Tyr161-OH + His190$$
(4)

ここでXと表現されているのはYzラジカルの長寿命に応じてS<sub>3</sub>中間体に幾つかの候補が考えられるからであ

る. さらに, (4) 式の $Y_Z$ ラジカルの一電子還元に連動し て第4番目に観測されるのは500–1200 $\mu$ s間に起こる酸 素一酸素結合(O–O)形成反応である. この結論はTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>により観測された $O_X(O_{(6)}H)$ サイトの 電子密度の減少から結論されている. しかし,  $O_{(5)}$ サイ トの電子密度は1200 $\mu$ sまで減少しないことが観測され ている.<sup>8)</sup>

$$UO_{(5)} \cdots O_{(6)} Z \to UO_{(5)} - O_{(6)} Z$$
 (5)

ここで、U.ZはCaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub>クラスターで生成しうる中間 体構造の簡略表現である.残念ながらO-O形成反応過程 は遷移状態(Transition State; TS)に相当するために TR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>でもその構造は観測出来ない. さ らに、表1よりPeroxide中間体が生成するとすればO<sub>(5)</sub> -O<sub>(6)</sub>距離が1.4 Å程度まで減少することが観測されるこ とが期待されるが、今回のTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>ではそ れに対応する構造変化は捉えられていない.その原因の ーつには次の(6)式に示す置換反応が急速におこり Peroxideの濃度が小さくなり観測に掛からないことが考 えられている.<sup>11, 23, 29)</sup>

実際,第5番目に観測されるのは,(5)式で生成した Peroxideを追い出すために730–1200 $\mu$ s間にCaに配位 して挿入される2番目の水の動きに連動していると考え られるO<sub>(5)</sub>,W2,W3サイトの動きであり,O<sub>(5)</sub>-O<sub>(6</sub>)結合 形成反応に関係するO<sub>X</sub>(O<sub>(6</sub>)H)サイトの電子密度の減少 である.さらに,Caの最大配位数は8なのでH<sub>2</sub>O<sub>(7)</sub>を挿 入するためにAsp170のCO<sub>2</sub>アニオンのOサイトーCaイ オン間の配位結合が(6)式に示すように730–1200 $\mu$ s間 に外れることも観測されている.

Asp170-O–Ca + 
$$H_2O_{(7)} \rightarrow Asp170-O \cdots Ca-H_2O_{(7)}$$
 (6)

さらに、1200 $\mu$ s後になると(5)式で生成したPeroxide が(6)式で挿入されたH<sub>2</sub>O<sub>(7)</sub>で置換されるためにそれま で定常的であったO<sub>(5</sub>)サイトの電子密度が急減するが 1200–2000 $\mu$ s間に電子密度が回復することが観測され ているので、同サイトに新しく協奏的にHO<sub>(7)</sub>が挿入さ れることに対応していると<sup>30)</sup>と考えられる.

$$U-O_{(5)}-O_{(6)}-Z+H_2O_{(7)} \rightarrow U-O_{(7)}H-Z+O_{(5)}-O_{(6)}$$
(7)

また,酸素放出が起こる 1200–4000  $\mu$ s 間には Asp170の CO<sub>2</sub>アニオンのOサイトのCaイオンへの配位結合も回 復し,第2番目のプロトン放出 (Second Proton Release; SPR) も起こることが結論されている.後述するよう に,2000  $\mu$ s 以降にも幾つかの構造変化 (W1-W4サイ トなど)が起こり S<sub>0</sub>状態に至るシステム構造の再構築が 観測されている.このように,TR SFX-XFEL 実験<sup>8</sup>)に よる室温におけるシアノバクテリアのOECにおける水 分解反応の動的構造変化の観測結果を解釈してみたが, 上記の説明は可能な合理的推測であり,図2の視点から は反応に伴う価電子構造の変化やスピン状態の変化など の測定値は未だ発表されていないのでその確証は今後の 問題であるといえよう.

ホウレンソウのOECにおけるTR-FTIR実験<sup>11)</sup>でも (3) 式のプロトン放出過程は340 µs 後に観測され、さら に PRP I における動的構造変化も観測されシアノバクテ リアと同様の結論が得られている.一方,式(5)のUO(5) …O<sub>(6)</sub>Z中間体の形成は2500 µs後におこり, O-O結合 反応はその後急速に起こることが結論されている.この 論文ではMDなどの理論計算も活用されている. 触媒サ イトであるCaMn<sub>4</sub>O<sub>x</sub>クラスターの部分はシアノバクテ リアとホウレンソウ間で同じと考えられるので、これら の生物種による蛋白場の相違による反応速度の違いは光 合成反応の動的反応機構の学理の理解に重要な情報を与 たえると思われる. 今後, 藻類の場合の結果も明らかに なってくることを期待したい.また、O-O結合形成の timingに関しても、実験グループにより異なる提案<sup>31)</sup>が あるので、実験条件やサンプル調整条件にも影響される のかも知れない.いずれにしても動的反応機構の全貌の 分解能の向上による精緻な解明が待たれる.

# WIP (O1-Channe) における水分子の流入と動 的構造変化

昨年の研究報告(13)<sup>1)</sup>で紹介したように、高分解能 XRD 実験<sup>3)</sup>でOEC における水分子が観測され, QM/MM 計算により水素結合構造も検証<sup>30)</sup>できたので(1)式の 水分解反応における2個の水分子の挿入経路(WIP)や プロトンの放出経路 (PRP) には大別すると3経路<sup>32,33)</sup> が存在することが判明した. TR SFX-XFEL実験<sup>5-9)</sup>は 実際にWIPやPRPに関する動的構造変化を観測してい る. Okayama グループ<sup>3, 5, 6, 9)</sup> と Berkeley グループ<sup>7, 8, 34)</sup> では水の命名やChannel構造の命名が異なるので一見異 なる観測結果と思われるかもしれないが実質的に同じ動 的構造変化を観測している.<sup>13)</sup> 例えば, PRP Ⅲ(O<sub>(4)</sub>channel)の入り口に存在するW16 (20) (括弧内はBerkelry グループの水命名番号)はS1-S2遷移過程で動的効果の ために観測にされなくなる. さらに,  $S_2 \rightarrow S_3$ 遷移で導 入される第1番目の水のCaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub>クラスターへの挿入 に関係するWIP(O<sub>(1)</sub>channel)に連結する水の5員環構 造, それに連結する結合ネットワークの7-9)の動的構造 変化も研究報告 (9)<sup>22)</sup>で及び (10)<sup>28)</sup>で紹介したように概 ね同じである.

今回のTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>は $S_3 \rightarrow [S_4] \rightarrow S_0$ 過程で 導入される第2番目の水もWIP (O<sub>(1)</sub>channel) 経路で挿入 されることを解明した.実際,同実験<sup>8)</sup>によればThird Flashの1200 $\mu$ s後に5員環構造を形成するW20 (27), W21 (28) およびそれに連結するW24 (32) サイトに電 子密度の低下が見られ,W22 (29) に比較して動きが大き いことが判明した.この結果は酸素放出後のWIP (O1-Channel) からの2番目の水の挿入に対応していると解 釈<sup>8)</sup>されている.一方,WIPの入り口に存在する水分子 の5員環の中でもO<sub>(1)</sub>サイトに配位しているW10 (26) の動きは小さく,水素結合により強く固定されているこ とを反映している.このようにTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>は WIP (O1-Channel)<sup>32,33)</sup>が2番目の水に関しても流入経 路であることを確定した.

# 3.3. PRPI (Cl1-Channel) におけるプロトン放出と動 的構造変化

(1)式に示したように、水分解反応では4個のプロトンが放出される.研究報告(13)<sup>1)</sup>で紹介したように、プロトン放出経路(Proton Releae Pathway (PRP I); Cl1-channel)<sup>34)</sup>はAsp61,Glu65,Glu312,W12(40),W13(42),W14(41)などで構成され<sup>32,33)</sup>,さらにW37(W119),W38(W117),W40(W121),W38(129)などで構成されるRPR I-D1(Cl1-A)経路とW36(66),W41(60),W42(67),W43(69)などで構成されるRPR I-D2(Cl1-B)経路<sup>13)</sup>とに分岐している.このように、PRP I経路も両グループ間で命名は異なっているが同じ水素結合ネットワークを示している.さらに、TR SFX-XFEL<sup>7-9)</sup>およびTR-FTIR実験<sup>11)</sup>によればPRP IにおけるGlu65,Asp344,Glu312の領域はプロトン放出を制御するgating機能を有すると結論されている.

今回のTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>によれば、Third-Flashの 500 $\mu$ s後にGlu65、W12 (40) サイトの動的構造変化が最 大となる. この構造変化はS<sub>3</sub>→[S<sub>4</sub>]→S<sub>0</sub>遷移過程にお ける第1番目のプロトン放出 (FPR) に対応していると結 論された.<sup>8)</sup> さらに、1200–4000 $\mu$ s後には再びGlu65、 G312の水素結合ネットワークの構造変化が観測される が、この変化は第2番目のプロトン放出 (SPR) に対応し ていると帰属された. 一方、4000 $\mu$ s後にはS<sub>2</sub>、S<sub>3</sub>状態で 見えなくなっていたW16 (20)<sup>7-9)</sup>の電子密度が回復しS<sub>0</sub> 状態が生成されている. このように酸素放出および2番 目のプロトン放出後 (SPR) の水素結合ネットワークの 回復はKokサイクルの最終段階S<sub>4</sub>状態で達成されるこ とが判明した.

PRP III (O4-channel) に関してもW11(19),W16(20), W17(48),W18(49),W31(50),W32(51),W33(53), W34(52)と両グループで同じ水素結合ネットワークが 観測され,W16(20)のdisorderも観測されている。しか し、今回のTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>によれば、W31-W34 の水クラスターの構造変化は観測されず $S_3 \rightarrow [S_4] \rightarrow S_0$ 過程での2個のプロトン放出にはこの経路は関与してい ないようである。

# 4. TR SFX-XFEL 実験結果と理論的 反応モデルとの比較検討

#### 4.1. 酸素--酸素結合反応過程の分類

過去数十年間, KokサイクルのS<sub>3</sub>→[S<sub>4</sub>]→S<sub>0</sub>遷移に おける酸素–酸素結合反応機構に対して数多くの提案が なされてきた. 今回のTR SFX-XFEL<sup>8)</sup>およびTR-FTIR<sup>11)</sup> 実験はこれらの提案を分類し, その妥当性を検討するた めの動的構造基盤情報を提供した. まず,酸素–酸素結 合形成反応は (5) 式に示すようにThird Flash後の500– 1200 $\mu$ s間に起こることが解明されたが, Tyr161-O•ラ ジカルへの一電子還元も (4) 式に示すように500–730– 1200 $\mu$ s間に起こることも判明した. 従って, 種々の提案 を分類する基準の一つとしてThird Flashの後生成する [S<sub>3</sub>+Tyr161-O•ラジカル] ((2a) 式参照) で表現される 初期S<sub>4</sub>状態においてCaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub>クラスターからTyr161-O• ラジカルへの一電子移動 (OET) の適時選択 (timing) を 考えることができる.<sup>12,13</sup>

図4(A)に示すように、まず考えられるのはOETの前 にすでに酸素—酸素結合(O-O)形成反応が起こる場合 (図4のCase I)であり、つぎにOETとOO形成反応がほ ぼ同時期に起こる場合(図4のCase II)、さらにOETのあ とにOO形成反応が起こる場合(図4のCase III)である. Case IではS<sub>3</sub>状態で生成した中間体(UO<sub>(5</sub>)…O<sub>(6</sub>)Z) がO-O結合形成(UO<sub>(5</sub>)-O<sub>(6</sub>)Z)反応を終えた後、例えば 生成した(3443)価電子構造<sup>13)</sup>を持つMn-Peroxide中間 体の形成の後、Tyr161-O・ラジカルへのOETが起こり (4443)価電子状態を持つMn-Peroxide中間体に変換さ れることになる.Pushkar<sup>31)</sup>らのXES実験に基づくO-O 結合形成反応機構、Isobe<sup>35)</sup>、O'Malley<sup>36)</sup>らの理論計算に 基づく提案はCase Iに相当する.

一方, Case ⅢではOETがOO結合形成反応の前に起こ るので, S<sub>3</sub>構造の価電子状態が (4444)の成分の場合に



 図4 (A) CaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub>クラスターからTyr161-O•ラジカルへの一電 子移動(OET)と酸素-酸素結合(OO)形成反応のtiming による反応機構の分類,(B)O-O結合形成反応様式と同クラ スターの電子・スピン状態との相関関係.<sup>12</sup>

はMn(V)価のサイトの形成が可能で $S_4$ 状態で (5444) 価 電子状態が形成され、 $CaMn_4O_6$ クラスター内にMn(V)=O結合反応サイトの形成が可能となる.この場合はMn(V)-Mn( $\square$ )の2電子O-O結合過程なので後述する Acid-Base (AB) 機構<sup>37,38)</sup>などが可能となる.一方、(4443)-O•成分 の場合には $Mn(\square)$ サイトが酸化され (4444)-O•の価電 子状態が可能になり、形式的にはMn(V)=O結合がスピ ン分極してMn(W)-O<sub>(6</sub>)•サイトの形成された状態<sup>39)</sup>にな る.Siegbahn<sup>40)</sup>、Yamaguchi<sup>41)</sup>、Dau (TR-FTIR)<sup>11)</sup>らの Radical Coupling (RC) 機構, Shoji らのCa-assisted CBS (Concerted Bond Switching) 機構<sup>42)</sup>はCase  $\square$ に分類さ れる.

今回のTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>も分解能のTyr161-O・ラ ジカルの寿命から判断して微妙ではあるがBerkeleyグ ループはMn(V)=OあるいはMn(IV)-O<sub>(6</sub>・の生成<sup>39)</sup>がOO 形成反応の前に起こると結論しているので大局的には Case IIIに分類される.しかし、X線分光実験によりMn サイトの価電子状態を確認する実験結果が未だ公表され ていないので本稿では時間依存電荷・スピン構造の変化 や上記のどちらのタイプのMn-酸素結合が生成してOO 形成反応進行(CBSあるいはRC)しているのかについ ては区別出来ない状況である.TR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup>に よれば500-730-1200 $\mu$ sの短い間にOET,OO結合形成 反応、2番目の水の反応場への挿入が起こることから、 全ての過程は連結しておりCBS機構<sup>43)</sup>を考慮すれば全 体としてCa-assisted concerted(CAC)機構<sup>13)</sup>で反応が 進んでいると見なすことも可能である.

Cytochrome c Oxydase (CcO) における酸素分子の還 元反応ではTyr-O・ラジカルが関与するのでFe(V)=Oの 生成が必要なくFe(IV)=Oの段階に留まる機構が提案<sup>13)</sup> されている. Isolobal-Isospin 類推の視点<sup>13)</sup>では, PSII における酸素発生反応でも、Tyr161-O・ラジカルへの電 子移動OO形成反応が連動し、Mn(V)=O状態の形成を 必要としない可能性も残されている. Shojiらにより提 案されたOO結合形成反応過程にTyr161-O・ラジカルが 関与する NA-OET (Nonadiabatic OET) 機構<sup>43)</sup>では OO 形成とOETは並行して起こるのでCase IIに相当する. このように、 $S_3 \rightarrow [S_4] \rightarrow S_0$ 遷移における CaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub>クラ スターからのTyr161-O•ラジカルへのOETのtimingは O-O結合反応機構の分類と特徴の把握<sup>13)</sup>に有効である. ごく最近, Ru-O系の人工光合成錯体の水分解反応でも Phenoxyl ラジカルのOETへの寄与が観測され, Case II に相当する.<sup>44)</sup>

# 4.2. 酸素--酸素結合反応過程の理論モデル再訪

過去数十年間,光合成の水分解O-O結合反応に関する 電子・スピン反応機構についても数多くの提案が成され て来た.図4(B)にその中でも代表的な電子機構を図示 した.CaseⅢのように高原子価Mnオキソ結合(Mn(V) =O) が生成すると仮定すれば非ラジカル的Acid-Base (AB) 型反応機構の可能性が考えられる.Brudvig<sup>37)</sup>ら, IwataとBarber<sup>38)</sup>らの提案はこの範疇に分類される.

$$Mn(V)=O + H_2O(OH) \rightarrow Mn(II)-OOH + BH^+$$
(8)

 一方, Case ⅢでもMn(V)=O結合はスピン分極により Mn(IV)-O•型のラジカル性が顕著である場合には研究報告(5)<sup>45)</sup>で紹介したようにRadical Coupling(RC)<sup>40-42)</sup>
 型反応機構が考えられる.

 $Mn(X)-O\bullet + \bullet O-Mn(Y) \rightarrow Mn(X)-O-O-Mn(Y)$  (9)

ここで, X, Y はⅢ, IV のどちらかである.人工系のMn<sub>12</sub>O<sub>12</sub> 錯体による水分解反応などはキュバン構造の閉じた構造 でもRC機構が適用可能である.<sup>13)</sup>

PSIIのOECに埋め込まれたCaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub>クラスターでは 表1に示したように挿入されたS3状態で挿入されたOGX とCaイオンとの結合距離(Ca-O<sub>(6)</sub>)はTR SFX-XFEL 実験<sup>7)</sup>では2.49ÅでありO<sub>60</sub>サイトはCaに強く配位し ていることが理解される.表1に示した構造最適化によ り得られた当該距離はMn-Oxo, Mn-Oxyl, Mn-OH<sub>glu</sub>に 対して2.36, 2.45, 2.45 Åであり実験結果<sup>8)</sup>と矛盾しない. このCaへの配位効果がCase IIIで生じたMn(V)=O結合の ラジカル性 (Mn(N)-O•) を低減させる場合<sup>46)</sup>にはO-O 結合形成反応もRC機構でなくCa-assisted CBS機構<sup>42)</sup> が可能となる. CBS 機構の詳細は研究報告(8)<sup>47)</sup>で紹介 した. このように, CaイオンはW3, W4, H<sub>2</sub>O(7)などの 水の配位挿入サイトだけではなくO<sub>(6)</sub>-O<sub>(5)</sub>結合形成反応 にも重要な役割をしている.従って、シアノバクテリア の反応場における酸素発生反応はCa-assited concerted (CAC) 機構で進行している可能性が浮上して来ている.<sup>13)</sup>

# 5. 今後の問題

#### 5.1. SFX-XFEL構造の検討

Kern ら<sup>7)</sup>による S<sub>2</sub>状態での CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub> クラスターにお ける Mn4-O<sub>(5)</sub> 距離の実測値は2.22 Åであり、数多くの Mn酸素錯体で観測されている Mn( $\mathbb{N}$ )-O<sup>2-</sup> 間距離(1.8– 1.9 Å)<sup>13)</sup>に比較して長すぎるように思われる.筆者らは CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub> クラスターの実測あるいは計算による Mn4-Mn3 距離を用いて Mn4-O<sub>(5)</sub>距離を推算する経験式を<sup>13,28,48)</sup> 導出している.

$$R(Mn4-O_{(5)}) = 2.18 + x + \Delta$$
(10a)

$$R(Mn4-Mn3) = 2.80 + x/4$$
(10b)

ここで、 $x \text{th} \text{Mn}(\text{IV})-\text{O}^2$ 間距離の増減を表現する変数で あり、 $\Delta \text{th} O_{(6)}$ あるいは $O_X$ の挿入よる変形因子である。 例えば、 $S_2$ 状態での $S_{2acca}(\mathbf{R})$ 中間体のUB3LYP-D3法に よる構造最適化により得られたMn4-Mn3およびMn4 $O_{(5)}$ 距離はそれぞれ2.70, 1.79 Åであった.<sup>13.28,48)</sup> 一方, (10b) 式を用いて, xの値を求めると-0.4 Åであるので Mn4- $O_{(5)}$ 距離の推算値は1.78 Åとなり計算値と整合して いる (ここで $S_2$ 状態では $O_{(6)}$ あるいは $O_X$ の挿入がない ので $\Delta = 0$ である).

 $S_{3abca}(R)$ -OH<sub>glu</sub>の構造最適化により得られたMn4-Mn3 距離は2.75 Åであるので、 $\Delta = 0 \ge 6 = 1$  ( $Mn4-O_{(5)}$ ) 距離の推算値は1.98 Åとなる. 一方、 $S_{3abca}(R)$ -OH<sub>glu</sub>の 最適化構造ではMn4-O<sub>(5)</sub>距離は1.81 Åであるので $\Delta$ は 約–0.2 (-0.17) Åとなる. 最適化したOxyl構造のMn4-Mn3距離は2.83 ÅなのでMn4-O<sub>(5)</sub>距離は $\Delta = 0 \ge 6 = 1$ ですれば2.30 Åと推算されるが、さらに図1に示したW の挿入効果による補正項 $\Delta = -0.2$  (-0.17) Åを加えると 2.10 (2.13) Åとなる. この値は構造最適化により得ら れた2.09 Åと整合する.<sup>13)</sup> Mn4-O<sub>(5)</sub>距離が短くなると、 O<sub>(5)</sub>-O<sub>(6)</sub>間距離が伸びることになるのでこの結果は無視 できない.

$$\Delta \Delta = R \left( Mn4 - O_{(5)} \right)_{obs(SFX-XFEL)} - R \left( Mn4 - O_{(5)} \right)_{est} \quad (11a)$$

$$R(O_{(5)}-O_{(6)})_{est} = R(O_{(5)}-O_{(6)})_{obs} + \Delta\Delta$$
(11b)

SFX-XFEL実験による Mn4-O<sub>(5)</sub>距離は2.22 Åであるの でΔΔは約0.1 (0.12) Åとなる.従って,修正後のO<sub>(5)</sub>-O<sub>(6)</sub>距離も2.21 Åと少し長くなる傾向を示す.

### 5.2. S<sub>3</sub>状態における2状態モデルの再検討

上記の考察からSFX-XFEL実験<sup>5-9)</sup>で観測されたMn4 -Mn3距離に含まれる実験誤差はMn4-O<sub>(5)</sub>距離に比較し て少ないと考えられる.従って,Mn4-Mn3距離を推算 に使用するとすれば、測定されたMn4-Mn3距離は研究 報告 $(12)^{49)}$ で考察したS<sub>3</sub>状態の2中間体平衡モデルの範 囲<sup>13, 26, 49)</sup>ではS<sub>3abca</sub>(R)-OH<sub>glu</sub>の構造とOxyl構造(S<sub>3acca</sub> (R)-oxyl)に対応するMn4-Mn3距離の重ね合わせで表 現される.

$$R (Mn4-Mn3)_{obs} = p R (Mn4-Mn3)_{S3abca(R)-OHglu} + (1-p) R (Mn4-Mn3)_{S3acca(R)-oxyl}$$
(12a)

ここで, pは混合係数であり, hydroxide, oxyl構造の最適 化Mn4-Mn3距離はそれぞれ2.75, 2.83 Åである. Kern  $6^{77}$ による SFX-XFEL実験によるMn4-Mn3距離はAお よびB(a) モノマーの平均値をとれば2.77 Åであるので (4a) 式からpの値は0.75 ( $p \times 100\%$ ) と推算される. このように,実験誤差が少ないと仮定したMn4-Mn3距 離から推算するとBerkeleyグループのSFX-XFEL構造 は室温状態でもhydroxide構造の割合が多いと言える. (12a) 式でp値が求められたので, Mn4-O<sub>(5)</sub>及びO<sub>(5)</sub>-O<sub>(6)</sub> 距離も同様に推算可能である.

$$R(Mn4-O_{(5)})_{obs} = p R(Mn4-O_{(5)})_{S3abca(R)-OHglu} + (1-p) R(Mn4-O_{(5)})_{S3acca(R)-oxyl}$$
(12b)

$$\mathbf{R}(\mathbf{O}_{(5)} - \mathbf{O}_{(6)})_{\text{obs}} = p \ \mathbf{R}(\mathbf{O}_{(5)} - \mathbf{O}_{(6)})_{\text{S3abca}(\mathbb{R}) - \text{OHglu}} + (1-p) \mathbf{R}(\mathbf{O}_{(5)} - \mathbf{O}_{(6)})_{\text{S3acca}(\mathbb{R}) - \text{oxyl}}$$
(12c)

(12c) 式から明らかなように, 推算された $O_{(5)}$ - $O_{(6)}$ 距離 は2.4-2.5 Åに伸びることになり, Berkeley グループの SFX-XFEL構造で求められた $O_{(5)}$ - $O_{(6)}$ 距離 (2.1 Å) より も長くなる.従って,(12) 式の仮説では $O_X$ と表現され ている挿入基<sup>7)</sup>はOH (Mn-hydroxide) であると考えら れる.<sup>28)</sup>

#### 5.3. おわりに

本稿ではBerkeleyグループの最新のTR SFX-XFEL 実験結果<sup>8)</sup>をシアノバクテリア2両体構造のAモノマー に対する構造解析結果と分光実験、理論計算の結果を用 いて解析した. この解析結果ではTR SFX-XFEL実験<sup>8)</sup> により観測された時間依存動的構造変化と我々の理論計 算結果を総合すると(1)式の水分解反応はCa-assited concerted (CAC)機構で進行する描像が得られた.一 方, BerkeleyグループのBモノマーや岡山大学のTR SFX-XFEL実験<sup>7.9)</sup>によるA,Bモノマーの構造から解析 すると出発のS<sub>3</sub>状態でMn-Oxyl中間体の寄与が無視出 来ないのでS<sub>3</sub>→[S<sub>4</sub>]→S<sub>0</sub>遷移過程のTR SFX-XFEL実 験<sup>7-9)</sup>による時系列変化に対応する解釈も異なる可能性 がある. A, Bモノマー間の相違は結晶状態のpackingの 仕方に起因することを考慮すると,水分解反応機構は温 度. pH. その他の環境因子により変動しうる可能性(研 究報告 (3) 参照<sup>15)</sup>), さらにTR-FTIR<sup>11)</sup>の結果を考える と生物種によってOECを保護する表在性蛋白質が異な る理由も判明するかも知れない. 今後. 水分解反応の動 的反応機構の多様性の解明に向けてより分解能の向上し たTR SFX-XFEL実験結果やX線分光などによる価電子 構造の時系列変化の解明が望まれる.一方,理論計算で は化学反応過程も含む構造変化も取り扱えるLarge-scale OM (> 400 atoms)/MM/MD計算(研究報告(3)<sup>15)</sup>) に 基づく考究が必要となって来たと言えよう.

#### 謝 辞

本総説を書くにあたり種々の議論をしていただいた数 多くの先生方や共同研究者心よりお礼申しあげます.また,自然科学研究所の計算機センターには長時間の計算 時間の使用許可を頂き心より感謝申しあげたい.XFEL 法による時間依存 SFX 構造解析は現在進行中の技術で あり今回のS<sub>3</sub>状態のSFX構造に関する小生らの理論的 解析結果に関しては勉強不足のために今後大きな間違 いが指摘される可能性がありうる.本稿の内容に関し て全ての責任は筆者(山口)にある事を明記しておき たい.

# 文 献

- 山口 兆, 庄司光男, 宮川晃一, 磯部 寛, 川上貴資, 中 嶋隆人, 豊田研究報告, 76 (2023) 87-95.
- B. Kok, B. Forbush and M. McGloin, *Photochem. Photo*biol., **11** (1970) 457-475.
- Y. Umena, K. Kawakami, J.-R. Shen and N. Kamiya, *Nature*, 473 (2011) 55-60.
- A. Tanaka, Y. Fukushima and N. Kamiya, J. Am. Chem. Soc., 139 (2017) 1718-1721.
- 5) M. Suga, et al., Science, 366 (2019) 334-338.
- 6) M. Suga, et al., Nature, 543 (2017) 131-135.
- 7) J. Kern, et al., Nature, 563 (2018) 421-425.
- 8) A. Bhowmick, et al. Nature, 617 (2023) 629-636.
- 9) H. Li, et al., Nature, 626 (2024) 670-677.
- 10) T. Noguchi, Phil. Trans. R. Soc. B, 363 (2008) 1189-1195.
- P. Greife, M. Schönborn, M. Capone, R. Assunção, D. Narzi, L. Guidoni and H. Dau, *Nature*, 617 (2018) 623-628.
- K. Miyagawa, M. Shoji, H. Isobe, T. Kawakami, T. Nakajima and K. Yamaguchi, *Chem. Phys. Lett.*, **793** (2022) 139439.
- K. Yamaguchi, K. Miyagawa, M. Shoji, T. Kawakami, H. Isobe, S. Yamanaka and T. Nakajima, *Photosynth. Res.*, (2023). DOI: 10. 1007/s11120-023-01053-7.
- H. Isobe, M. Shoji, S. Yamanaka, Y. Umena, K. Kawakami, N. Kamiya, J.-R. Shen and K. Yamaguchi, *Dalton Trans.*, 41 (2012) 13727-13740.
- 15) 山口 兆, 斉藤 徹, 磯部 寛, 山中秀介, 豊田研究報告, 64 (2011) 37-51.
- 16) J. Yano and V. Yachandra, Chem. Rev., 114 (2014) 4175-4205.
- 17) P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski and M. J. Frisch, J. Phys. Chem., 98 (1994) 11623-11627.
- 18) S. Grimme, J. Chem. Phys., 124 (2006) 034108.
- C. Riplinger and F. Neese, J. Chem. Phys., 138 (2013) 034106.
- 20) M. Saitow, U. Becker, C. Riplinger, E. F. Valeev and F. Neese, J. Chem. Phys., 146 (2017) 164105.
- N. Cox, M. Retegan, F. Neese, D. A. Pantazis, A. Boussac and W. Lubitz, *Science*, **345** (2014) 804-808.
- 22) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 川上貴資, 宮川晃一, 中 嶋隆人, 豊田研究報告, 72 (2019) 131-151.
- 23) H. Isobe, M. Shioji, T. Suzuki, J.-R. Shen and K, Yamaguchi, J. Chem. Theory Comput., 15 (2019) 2375-2391.
- 24) A. Boussac, I. Ugur, A. Marion, M. Sugiura, V. R. I. Kaila and A. W. Rutherford, *Biochim. Biophys. Acta*, **1859** (2018) 342-356.
- 25) M. Drosou and D. A. Pantazis, *Chem. Eur. J.*, **27** (2021) 12815-12825.
- 26) H. Isobe, M. Shoji, J.-R. Shen and K. Yamaguchi, *Inorg. Chem.*, 55 (2016) 502-511.
- 27) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 山中秀介, 川上貴資, 中 嶋隆人, 豊田研究報告, 68 (2015) 85-106.
- 28) K. Yamaguchi, K. Miyagawa, M. Shoji, H. Isobe and T. Kawakami, *Chem. Phys. Lett.*, 806 (2022) 140042.

- 29) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 川上貴資, 宮川晃一, 中 嶋隆人, 豊田研究報告, 73 (2020) 113-130.
- M. Shoji, H. Isobe, Y. Shigeta, T. Nakajima and K. Yamaguchi, J. Phys. Chem. B, 122 (2018) 6491-6502.
- Y. Pushkar, K. M. Davis and M. C. Palenik, J. Phys. Chem. Lett., 9 (2018) 3525-3531.
- 32) M. Shoji, H. Isobe, S. Yamanaka, Y. Umena, K. Kawakami, N. Kamiya, J.-R. Shen, T. Nakajima and K. Yamaguchi, *Adv. Quant. Chem.*, **70** (2015) 327-406.
- 33) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 山中秀介, 川上貴資, 中 嶋隆人, 豊田研究報告, 70 (2017) 85-106.
- 34) 山口 兆, 庄司光男, 斉藤 徹, 磯部 寛, 山中秀介, 豊 田研究報告, 65 (2012) 9-19.
- 35) H. Isobe, M. Shoji, T. Suzuki, J.-R. Shen and K. Yamaguchi, J. Photochem. Photobiol. A, 405 (2021) 112905.
- 36) T. A. Corry and P. J. O'Malley, J. Phys. Chem. Lett., 9 (2018) 6269-6274.
- 37) E. M. Sproviero, J. A. Gascón, J. P. McEvoy, G. W. Brudvig and V. S. Batista, J. Am. Chem. Soc. 130 (2008) 3428-3442.
- 38) S. Iwata and J. Barber, Curr. Opin. Struct. Biol., 14 (2004) 447-453.
- 39) K. Yamaguchi, Y. Takahara and T. Fueno, In *Applied Quantum Chemistry*, edited by V. H. Smith, Jr., H. F. Schaefer, III and K. Morokuma (D. Reidel Pub. Com., Lancaster, 1986) pp. 155-184.
- 40) P. E. M. Siegbahn, Chem. Eur. J., 14 (2008) 8290-8302.
- 41) K. Yamaguchi, M. Shoji, T. Saito, H. Isobe, S. Nishihara, K. Koizumi, S. Yamada, T. Kawakami, Y. Kitagawa, S. Yamanaka and M. Okumura, *Int. J. Quant. Chem.*, **110** (2010) 3101-3128.
- 42) M. Shoji, H. Isobe and K. Yamaguchi, *Chem. Phys. Lett.*, 714 (2019) 219-226.
- M. Shoji, H. Isobe, Y. Shigeta, T. Nakajima and K. Yamaguchi, *Chem. Phys. Lett.*, 698 (2018) 138-146.
- 44) Y. Kumagai, R. Takabe, T. Nakazono, M. Shoji, H. Isobe, K. Yamaguchi, Y. Misawa-Suzuki, H. Nagao and T. Wada, *Sustanable Energy Fuels* (2024). DOI: 10.1039/D3SE01610B.
- 45) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 山中秀介, 豊田研究報 告, 66 (2013) 1-19.
- 46) K. Yamaguchi, S. Yamanaka, H. Isobe, M. Shoji, K. Koizumi, Y. Kitagawa, T. Kawakami and M. Okumura, *Polyhedron*, 26 (2007) 2216-2224.
- 47) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 山田 悟, 宮川晃一, 豊 田研究報告, 71 (2018) 129-142.
- 48) M. Shoji, H. Isobe, S. Yamanaka, Y. Umena, K. Kawakami, N. Kamiya and K. Yamaguchi, *Adv. Quant. Chem.*, 78 (2019) 307-451.
- 49) 山口 兆, 宮川晃一, 庄司光男, 磯部 寛, 川上貴資, 中 嶋隆人, 豊田研究報告, 72 (2022) 107-128.