

# 化学反応における対称性の破れの理論 (13) PSIIの酸素発生サイトの分子システム構造と 水挿入およびプロトン放出経路再訪

山口 兆<sup>\*1,\*5,\*6</sup> 庄司 光 男<sup>\*2</sup>  
宮川 晃 一<sup>\*2</sup> 磯部 寛<sup>\*3</sup>  
川上 貴 資<sup>\*4,\*6</sup> 中嶋 隆 人<sup>\*6</sup>



\*山口 兆 元フェロー

## Biomolecular Systems Structure, Water Inlet and Proton Release Pathways, in the Oxygen Evolution Complex of PSII are Revisited

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

Large-scale QM(380 atoms)/MM computational results for the oxygen evolving complex (OEC) of photosystem II (PSII) are revisited in relation to recent SFX XFEL experiments at about 2.0 Å resolution revealing biomolecular systems structure, water inlet and proton release pathways in the S<sub>2</sub> and S<sub>3</sub> states of the Kok cycle for water oxidation. The hydrogen-bonding networks consisted of key water molecules W1-W27 around the CaMn<sub>4</sub>O<sub>x</sub> cluster are preserved throughout the Kok cycle, indicating that the notation of W1-W27 based on the high-resolution (HR) XRD structure in the S<sub>1</sub> state is reliable enough to understand subtle structural differences such as dynamical motion of W16 in the S<sub>2</sub> and S<sub>3</sub> states. Early QM/MM computational results for water insertion process in the S<sub>2</sub> to S<sub>3</sub> transition were found to be compatible with available SFX XFEL results.

### 1. 序 章

本シリーズでは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>x</sub> (x = 5, 6) クラスターの分子・電子・スピン構造やプロトン移動異性体などを詳細に検討し、クラスター周辺の水素結合ネットワーク構造なども解析し水挿入経路やプロトン放出経路などの分子システム構造を考究してきた。<sup>1)</sup> PSIIにおける水分解反応はKokサイクルと称される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。<sup>2)</sup> 本シリーズで解説してきたようにS<sub>0</sub> ~ S<sub>3</sub>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高分解能 (High Resolution : HR) X線構造解析 (X-ray Diffraction : XRD) 法<sup>3)</sup>、低ドーズ (Low Dose : LD) XRD<sup>4)</sup>、X線自由電子レーザー (X-ray Free Electron Laser : XFEL)<sup>5-10)</sup>を使用したSFX (Serial Femto-

second Crystallography) 法、X線発光分光 (X-ray Emission Spectroscopy : XES)<sup>10)</sup>法などを用いた研究が進展している。最近のSFX XFEL実験<sup>5-10)</sup>は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を解明した。その結果、S<sub>1</sub> → S<sub>2</sub> → S<sub>3</sub>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<sup>11-13)</sup>に関する重要な構造情報が得られることになった。本稿ではHR XRD<sup>3)</sup>、LD XRD<sup>4)</sup>、SFX XFEL実験<sup>5-10)</sup>によるPSIIの分子システム構造解明に関連してPSIIの酸素発生サイト (OEC) のQM/MM計算結果<sup>11-17)</sup>を再訪し、S<sub>2</sub>及びS<sub>3</sub>状態での分子システム構造について考察し、S<sub>2</sub>からS<sub>3</sub>状態への遷移に伴う水分子挿入経路やプロトン放出経路について紹介する。

### 2. PSIIの酸素発生部位の生体分子システム構造

#### 2.1. CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスター周辺の水分子の発見と汎用名

本シリーズの(9)<sup>18)</sup>及び(10)<sup>19)</sup>で紹介してきたように天然光合成の太陽光を利用する水分解酸素発生反応サイト (OEC) は生体分子システム構造とも呼ぶべき多層構造<sup>15)</sup>より構築されている。一般に理論計算はOECのように多自由度系でもHR XRD実験により局所的安定構

2023年2月27日 受理

\*1 豊田理化学研究所元フェロー

\*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

造が実測されればその構造の精密化<sup>11-13)</sup>に大変有効に使用できる(最近のreview参照<sup>20)</sup>). 特に, 現状の構造解析実験<sup>3-10)</sup>では水素原子が見えていないので本シリーズで紹介して来たように種々のプロトン化異性体の構造最適化を実行し, 実験結果と比較検討することにより該当する構造を特定することが可能である. 実際, 量子化学理論的にはHDFTレベルの計算でもCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターの構造最適化が可能であり, “歪んだ椅子構造”と称されるHR XRD構造<sup>3)</sup>を精密化することが可能であった. QM計算で得られた最適精密化構造<sup>11-13)</sup>はその後X線損傷のないLD XRD<sup>4)</sup>, SFX XFEL実験結果によるS<sub>1</sub>構造<sup>21)</sup>とよく対応することが判明し, 理論計算の有効性も実証された(本シリーズの(6)参照<sup>22)</sup>). さらに, BS HDFT法は近似射影によりCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターにおけるMn間有効交換相互作用(*J*)の解析に有効に適用された. さらに, 得られた*J*値を含むSpin Hamiltonianを厳密対角化することにより, スピン多重度間のエネルギーレベルやスピン分布などのEPR実験結果の解析<sup>20)</sup>に有効であることが判明した(本シリーズの(10)参照<sup>19)</sup>).

OECの多階層連結計算<sup>15)</sup>の次の段階は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とシステム構造の解明であった. 前述のように約2.0 Åの分解能を持つHR XRD構造<sup>3)</sup>では水素原子の位置は未だ見えないので, 水分子の酸化状態であるO<sup>2-</sup>, OH, H<sub>2</sub>Oの実験的識別は不可能な状態であった. そこで, HR XRD構造<sup>3)</sup>で判明したCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスター構造のみならずその周辺の水素結合ネットワークの構造の精密化も重要となったのでQM/MM計算を実行した.<sup>11-13)</sup> そのため, QMモデルにCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターの第二配位圏に存在するアミノ酸残基や水分子(27個)を取り込むQM(380原子)モデルを構築し, さらにその周り(18 Å範囲)の蛋白場をMM(AMBER)モデルで取り込み, その外側(30 Å範囲)も

MMで考慮する三層モデル<sup>15)</sup>を構築した. HR XRD構造<sup>3)</sup>には結晶化に使用したグリセロールも取り込まれているので水分子に置き換える必要があった. 構造最適化はQM/MM(AMBER)レベル<sup>11-13)</sup>で実行し, 外側の蛋白場はHR XRD構造<sup>3)</sup>に固定することにより実行した(本シリーズの(5)<sup>23)</sup>参照). 水素原子を露に考慮した結果, 水素結合ネットワークにおける酸素-酸素距離のみでなく, 酸素-水素原子間距離, 酸素-水素-酸素間結合角度などの最適化構造値が判明した.<sup>11-13, 18, 19, 23)</sup> 図1にQM/MMレベルの計算結果の概念図を示した. 残念ながら, LD XRD実験<sup>4)</sup>や最近のSFX XFEL実験<sup>5-10, 24)</sup>でもPSIIのOECでの水素原子の水素結合系の詳細に関する実験情報が未だ得られていないが関連物質の水素結合系と比較しても妥当な結果といえよう.

我々のQM/MM計算<sup>11-13)</sup>はHR XRD構造<sup>3)</sup>により解明された分子システム構造に立脚して得られた結果なので, その精密化構造はKokサイクルのS<sub>1</sub>状態<sup>2)</sup>に対応する. 一方, 最近のSFX XFEL実験<sup>5-10, 24)</sup>によりS<sub>2</sub>およびS<sub>3</sub>状態に対応する分子システム構造が解明されている. 従って, これらの実験結果を比較検討することによりKokサイクル<sup>2)</sup>における水素結合ネットワーク構造の変化が理解される. 現在までに報告されているPDBファイルより, 観測されている水分子の数が異なり, CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスター周辺の水分子の汎用名も種々の論文<sup>8-10, 11-13)</sup>で異なるので, Kokサイクル<sup>2)</sup>の統一的理解のためにまず水素結合ネットワークの比較検討から始める. HR XRD実験<sup>3)</sup>により観測された水分子の命名を表1にまとめた.

すでに, HR XRD構造<sup>3)</sup>では特にMn4に配位している水分子にW1, W2と, Caイオンに配位している水分子にW3, W4と汎用名が与えられている. HR XRD構造<sup>3)</sup>は始めて実験的にPSIIにおける水分子の位置を解明したので, 図1に示したようにCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスター周辺の重

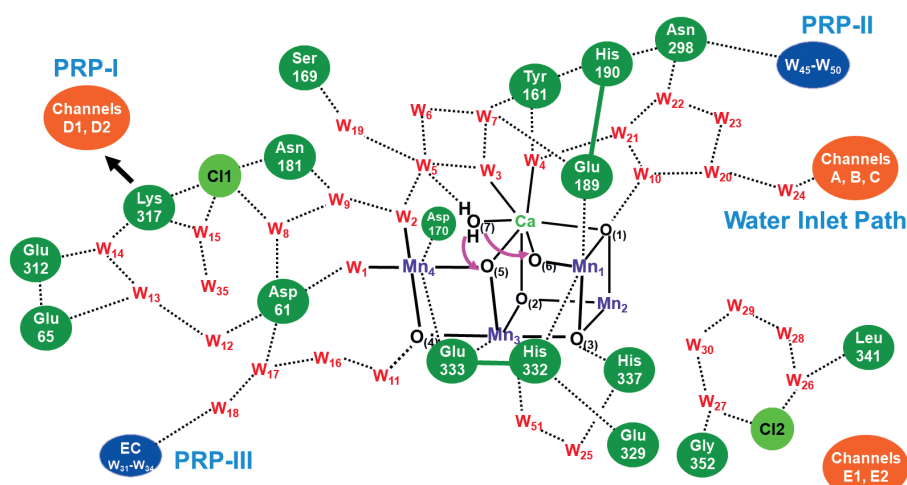


図1 HR XRD<sup>3)</sup>実験により解明され, Large-scale QM(380 atom)/MM<sup>11-13)</sup>計算により精密化されたOECにおけるCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスター周辺の水素結合ネットワーク構造と構成水分子の汎用名.

**Table 1** Comparisons of the notations of water molecules around the CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub> cluster in OEC of PSII.

3WU2 <sup>a)</sup>	Suga <sup>b)</sup>	Tanaka <sup>c)</sup>	QM/MM <sup>d)</sup>	XFEL <sup>e)</sup>	Connections <sup>d)</sup>
509 (605)	557 (516)	655 (652)	5	24	W2, W3, W6, W19
567 (501)	510 (591)	635 (615)	6	23	W5, W7, Phe182
564 (567)	570 (528)	515 (545)	7	25	W3, W6, Tyr161, Glu189
621 (608)	559 (518)	515 (532)	8	21	W9, Asp61, Lys317
609 (513)	560 (519)	542 (579)	9	22	W2, W8, C11, Asn181
597 (609)	601 (561)	575 (569)	10	26	O <sub>(1)</sub> , W4, W20, W21
511 (542)	567 (525)	534 (506)	11	19	O <sub>(4)</sub> , W16, Asp61, Ser169
593 (540)	564 (522)	532 (528)	12	40	W13, W14, Asp61
553 (541)	596 (557)	627 (630)	13	42	W12, W14, Glu65, Asn335 (BB)
586 (561)	604 (602)	556 (583)	14	41	W12, Glu65, Lys317, Glu312
531 (598)	578 (575)	587 (516)	15	60 (59)	C11, Lys317 (BB)
633 (1086)	665 (1060)	714 (1100)	16	20	W11, W17, Glu354
605 (528)	542 (619)	563 (548)	17	48	W16, W18, Asp61 (BB)
516 (507)	546 (621)	553 (557)	18	49	W17, Ala336 (BB), Eigen Complex
572 (550)	556 (515)	568 (593)	19	62	W5, Ser169 (BB), Gly171 (BB)
508 (597)	547 (622)	574 (604)	20	27	W10, W24, Asp342 (BB)
623 (624)	588 (549)	636 (619)	21	28	W10, W4, W22, Gln165, Asn296
562 (596)	543 (508)	610 (631)	22	29	W21, W23
576 (514)	536 (615)	512 (563)	23	30	W20, W22, Glu189 (BB)
555 (569)	503 (584)	662 (663)	24	32	W20
506 (546)	634 (532)	560 (540)	25	—	His337, Asn350 (BB)
505 (619)	603 (563)	592 (600)	26	43	C12, Leu341 (BB)
605 (1028)	674 (1069)	743 (1178)	27	47	C12, Gly352 (BB)

<sup>a)</sup>Number of waters of A(B(a)) by HR XRD in ref. 3, <sup>b)</sup>Number of waters of A(B(a)) by SFX XFEL in ref. 21, <sup>c)</sup>LD XRD in ref. 4, <sup>d)</sup>QM/MM in ref. 13, and <sup>e)</sup>SFX XFEL in ref. 7.

要な水分子にも命名を拡大してW5-W27と汎用名を付与した。<sup>11-13)</sup> 一方, BerkeleyグループはS<sub>3</sub>状態のSFX XFEL実験結果<sup>7-10)</sup>に基づき数多くの水分子に異なる汎用名を付与したが, 我々の以前の結果<sup>11-13)</sup>と比較すると表1に示すように完全に1:1の対応関係が判明した. この結果, S<sub>1</sub>からS<sub>3</sub>状態への遷移に伴って水素結合ネットワーク構造が大きくは変動せずに保存されていることが理解される. LD XRD実験<sup>4)</sup>はHR XRD実験<sup>3)</sup>より数多くの水分子を検出しているが, 表1に示すように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には変化が観測されていない. さらに, 菅らのS<sub>1</sub>状態およびS<sub>2</sub>状態でのXFEL実験結果<sup>21,24)</sup>でも殆ど同じ結論が得られている. このように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は堅固である.

Kokサイクル<sup>2)</sup>のS<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>状態では表1のW16に相当する水分子が岡山<sup>24)</sup>およびBerkeley<sup>7-10)</sup>両グループのSFX XFEL実験では見えなくなることが報告されている. しかし, W16以外には大きな構造変化が観測されないためS<sub>1</sub>状態での水分子の汎用名W1-W27がKokサイクル<sup>2)</sup>に共通に使用可能であることが理解される. 一方, Berkeleyグループ<sup>7-10)</sup>の命名ではW5-W18に相当する部分が無く, W19から始まっているのでW1-W4の汎用名<sup>3)</sup>とは直接繋がらなく, S<sub>3</sub>状態ではW5-W18が見えなくなっているとの錯覚を与える可能性がある. 例えば, 我々の命名<sup>11-13)</sup>のW5, W6, W7, W8, W9, W10, W11, W16はBerkeleyグループの命名<sup>7-10)</sup>ではW24, W23, W25, W21, W22, W26, W19, W20となっている. さらに, Berkeleyグループはプロトン付加を援用してSFX XFEL実験の構

造精密化法<sup>7-10)</sup>の精度を向上させているのでプロトン位置に注意を要する.

図1に示すようにW1-W27はCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスター周辺に存在する反応場の形成に極めて重要な役割をしている. 表1にはW5-W27に連結している水分子やアミノ酸残基<sup>11-13)</sup>をまとめてある. 前述のようにO<sub>(4)</sub>-W11(W19)-W16(W20)-W17(W48) (括弧内はBerkeleyグループの命名)と連結する水素結合ネットワーク構造のなかでS<sub>1</sub>からS<sub>2</sub>への遷移によりW16に動的構造変化が起こっていることは注目される. この周辺ではシアノバクテリアの場合にはAsp87が存在する(図2参照)が, 植物ではAlaに置換されていることが解っており何らかの関連があるように思われる.

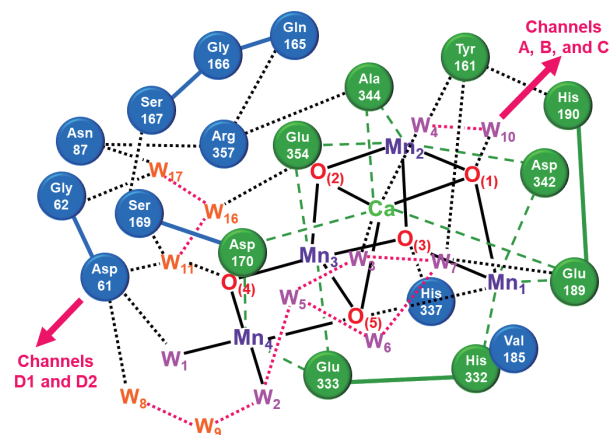


図2 本稿で紹介したQM(226原子)/CPCMおよびQM(282原子, 青色で示したアミノ酸残基を含む)/CPCM計算に使用したモデルの概念図.<sup>38,55)</sup>



## 2.2. 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

HR XRD構造の分解能<sup>3)</sup>では水素原子が見えないので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に関してもQM(380原子)/MM法による構造最適化<sup>11-13)</sup>が必須であった。そのため、HR XRD構造<sup>3)</sup>に水素原子を付加して水素結合系を構築しQM(380原子)/MM法によるOECの分子システム構造最適化を実行した。<sup>11-13)</sup> 構造最適化した酸素-酸素距離は実測値とよく対応しており、構造最適化した酸素-水素原子間距離、酸素-水素-酸素間結合角度なども多くの水素結合系の実験と比較しても妥当な結果であった。しかし、重原子間距離(O...O)が実測値と計算値で0.2 Å以上異なる水素結合ペアも幾つか見られた。一方、最適化された重原子間距離(O...O)が2.70 Åより短くなる強い水素結合ペアも存在した。このように、QM(380原子)/MM(AMBER)法による構造最適化<sup>11-13)</sup>は水素結合ネットワークの解析、精密化などに有効であった。

HR XRD構造<sup>3)</sup>で判明したCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターのMn4サイトには図1に示すように水分子W1, W2が配位しており、Caイオンには水分子W3, W4が配位している。QM/MM計算で精密化<sup>11-13)</sup>したこれらの水分子に連結している水素結合ネットワーク構造を表現するために重要な水分子に汎用名を付けることになり、まず図1に示したようにW2とW3に連結している水をW5とし、W5, W3に連結している水をそれぞれW6, W7とするとW3, W5, W6, W7はループを形成していることが理解される。一方、W1はAsp61アニオンと強い水素結合を形成しているため、Asp61とW2を連結している水を図1に示したようにW8, W9と命名することにした。<sup>11-13)</sup> さらに、CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターのO<sub>(1)</sub>, O<sub>(4)</sub>サイトに水素結合している水をW10, W11と命名した。W7はTyr161のOH基およびGlu189のC=O部位と水素結合を形成している。このように、数多くの水分子の中でもW5-W11はCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターの第二配位圏を連結し、かつ安定化している重要な水分子といえよう。<sup>11-13)</sup>

## 2.3. 水挿入経路 (WPI) の解明

本シリーズの(5)<sup>23)</sup>で紹介したようにHR XRD構造<sup>3)</sup>とそれに基づくQM/MM計算<sup>11-13)</sup>は水の挿入経路および生成するプロトン放出経路を解明した。まず図1よりO<sub>(1)</sub>サイトと水素結合を形成しているW10にはW20, W21が水素結合しているが、これらの水はQM部分に含め、ループを形成しているW22, W23、さらにチャンネルA, B, C<sup>3, 25)</sup>と連結しているW24はMM部分に含めることになった。この結果W10, W20-W23により形成される五員環は水供給を可能にする役割をすると予想された。実際、チャンネルA, B, Cには結晶化剤として使用したグリセロール分子が取り込まれていることよりこれらの構造は水挿入経路 (water inlet pathway [WIP])

と同定された。<sup>3, 11-13)</sup> 図1よりPSIIのOECではW24 → W20 → W10 → W21 → W4 → W3 → W5 → W2 → W9 → W8と水素結合ネットワークが形成されている。WIPはW10がO<sub>(1)</sub>に配位していることを強調して、O<sub>(1)</sub>チャンネルとも称される。<sup>8-10)</sup> 最近のBerkeleyグループによるSFX XFEL実験<sup>7-10)</sup>は水分子の温度因子の解析からO<sub>(1)</sub>チャンネルがWIPであると結論しており、我々の結果と一致している。<sup>3, 11-13)</sup>

## 2.4. プロトン放出経路 (PRP I-III) の解明

HR XRD構造<sup>3)</sup>とQM(380原子)/MM計算<sup>11-13)</sup>よりプロトン放出経路-I (proton release path [PRP] I) として、W2, Asp61, 塩素1 (Cl1) からCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターの安定化に寄与する表在性蛋白質PsbOに至る経路が特定された。PRP IではAsp61に連結してプロトン放出に寄与している3個の水が重要であるのでW12, W13, W14と命名した。さらに、Cl1に配位してその固定化に寄与している水の重要性に鑑みW15と命名した。PRP IはHR XRD構造<sup>3)</sup>に基づきD1およびD2チャンネル<sup>3)</sup>と命名されたが、最近ではそのかわりにCl1の重要性を強調してCl1-I, Cl1-IIチャンネルという名称<sup>7-10)</sup>も使用されるようになってきている。残念ながらQM(380原子)/MM計算<sup>11-13)</sup>ではこれらのチャンネルにある水分子 (W36-W44) をQM(380原子)部分に含めることは不可能であり、MM部分で考慮することになった。さらに、PsbO領域に近くなると観測される水分子の数もPDBにより異なってくるので詳細な検討が必要である。最近のSFX XFEL実験<sup>10)</sup>より実際にS<sub>2</sub>からS<sub>3</sub>状態の遷移過程でAsp61, 水分子 (W12, W13, W14), Glu65の周辺でプロトン移動に関与する構造変化が観測されており、PRP I (Cl1チャンネル) の帰属<sup>10-13)</sup>を支持している。また、FTIR実験<sup>26, 27)</sup>や理論計算<sup>28)</sup>によりPRP I (Cl1チャンネル) における分子システム構造の動的変化の研究が研究されているが本稿では割愛する。

HR XRD構造<sup>3)</sup>とQM(380原子)/MM計算<sup>11-13)</sup>より図1に示すようにAsp298から表在性蛋白質PsbVに至るプロトン放出経路II (PRP II) も解明および確認されているが、当時の計算機レベルではこの水素結合系をQM部分に取り込む事はできず、MM部分にW45-W50として考えることになった。PRP II経路でもPsbVの領域に近づくとSFX XFEL実験で観測される水分子の数には揺らぎが見られる。<sup>7-10, 24)</sup> PRP II経路によるプロトン放出はHR XRD実験<sup>29)</sup>などで検討されているが本稿では詳細を割愛する。このようにPSIIのOECには少なくとも本稿で紹介するように3種類のプロトン放出経路が確認されているのでOECは種々の状況に対応できる柔軟なシステム構造を持つように思われる。

PSIIのOECにはO<sub>(4)</sub>-W11から伸びる水素結合ネットワークも存在するので、それを形成している水をW16,

W17, W18と命名し, この経路をプロトン放出経路Ⅲ (PRPⅢ) および格納経路 (proton storing path [PSP]) と命名することにした.<sup>11-13)</sup> 図1に示したように Asp61はPRPⅠとRRPⅢを連結している重要なアミノ酸残基である. PSPの命名はS<sub>1</sub>状態のHR XRD構造ではPRPⅢのW18に連結する4個の水分子 (W31, W32, W33, W34) が直接PsbUに連結していないので, Eigen complexを形成してプロトンの格納機能を持つ可能性を示唆していたからである (本シリーズの(10)の図5参照<sup>19)</sup>). PRPⅢにはO<sub>(4)</sub>サイトの重要性を強調してO<sub>(4)</sub>チャンネルという名称も使用されている. 特に, SFX XFEL実験<sup>7-10, 24)</sup>により, S<sub>1</sub>からS<sub>2</sub>への遷移の過程でW16が見えなくなることが判明している. この原因には幾つかの解釈が提案されている. 例えばW16が回転木馬 (carousel) 機構に基づき反応サイトの方に移動するという提案がある.<sup>30, 31)</sup> さらに, S<sub>2</sub>状態ではW2の脱プロトン化がおり, そのプロトンがO<sub>(4)</sub>サイトに移動する. あるいはEigen complexに格納される結果, W16周辺の水素結合が弱まりその回転運動が可能となるというモデルも提案されている.<sup>32)</sup> 表2によりSer169はW11と強い水素結合しておりW16の回転木馬 (carousel) 機構による移動を抑制している可能性がある (図2参照).

図1に示したようにCI2の周りにもループを形成している5個の水分子が存在するがQM(380原子)/MM計算<sup>11-13)</sup>ではW26, W27はQM部分に取り込み, W28, W29, W30はMM部分に含めざるを得なかった. CI2はHis337がプロトン化している場合に電荷の中和に大き

く寄与し, その周辺のW26-W30はHis337のプロトン化に寄与している可能性がある. さらに, W25はプロトン化したHis337の安定化に寄与している. 一方, 図1に示したようにCI2の周辺にはE1, E2チャンネルも存在するがW26やPRPⅢ水素結合ネットワークで直接連結されている状態ではない.<sup>3, 13, 33)</sup> このように, QM(380原子)/MM計算<sup>11-13)</sup>では最重要なW1-W27までを考慮し, 残りのW28-W51はMM部分で考慮することになったが, HR XRD構造<sup>3)</sup>に立脚してPSIIのOECの分子システム構造を理解するのに有効であった. しかし, 構造解析に使用される結晶生成法や結晶化剤が文献<sup>3, 4, 5-10, 24)</sup>により異なり, 観測されている水の数も異なるのでO<sub>(5)</sub>サイトから15 Å以上遠い領域での水分子の数には揺らぎが見られる. O<sub>(5)</sub>原子はW2との水素結合によりPRPⅠ (CI1-I, CI1-II) のネットワークと連結しているが, その前面にはVal185が存在し疎水的環境が形成されている.<sup>11-13)</sup> 現状の実験結果<sup>3, 4, 5-10, 24)</sup>から判断する限り, PSIIのOECの分子システム構造は水分解Kokサイクル<sup>2)</sup>で保存されているので少なくともHR XRD<sup>3, 33)</sup>構造に基づき命名されたW1-W4と同様にW5-W34に関しても共通に使用可能であり, 反応機構解明<sup>34-38)</sup>に有効であることが理解される. このように, HR XRD構造<sup>3)</sup>に基づくLarge-scale QM/MM計算<sup>11-13)</sup>は水素原子付加によりCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターの周辺の最重要水分子群の命名と水素結合ネットワークの構造をS<sub>1</sub>状態で解明したが, この結果はS<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>状態<sup>7-10, 24)</sup>でも共通に使用可能であることが判明した.

### 3. 水素結合ネットワークの理論計算再訪

上記のようにOEC周辺の配位構造<sup>33-38)</sup>はその機能発現に大変重要である. 実際, 本シリーズ(12)<sup>1)</sup>で考察したようにS<sub>1</sub>状態でのQMモデルを103原子から226原子まで拡張した場合の最適化構造を求めると, 103原子モデルではSFX XFEL実験結果と比較すると微妙に異なるが226原子モデルにまで拡張すると良く整合することがわかった.<sup>37)</sup> しかし, 図2に示したように今回構造変化を指摘したW16に関係するアミノ酸残基群を考慮するとQMモデルのサイズは282原子に増加した. そこで, QM(282原子)モデルに基づいてUB3LYP-D3/def2-TZVP法で本シリーズ(12)<sup>1)</sup>で紹介したように構造最適化を実行したところCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターのS<sub>1</sub>状態における4種類の構造異性体の最適化構造はそれぞれQM(226原子)モデルで得られた構造と殆ど同じであった. これらの計算ではMMモデルではなくCPCM (Conductor-like Polarizable Continuum Model) 法で周辺の環境場の効果を取り込んでいる. 従って, CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターの3次元構造の最適化の目的にはQM/MM法の近似としてQM(226原子)/CPCMモデルの使用が最小限可能であるこ

**Table 2** The hydrogen bonding distances and angles around the CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub> cluster from the HR XRD structure<sup>3)</sup> and the fully optimized geometry of S<sub>1</sub><sub>acc</sub>(R) model by the UB3LYP-D3/def2-TZVP based on the QM(282 atoms) model.

X-Y H-bonds	R (X-Y) <sup>a)</sup>	R (X-Y) <sup>b)</sup>	R (H---Y) <sup>b)</sup>	A (X-H---Y) <sup>b)</sup>
W1-Asp61	2.72	2.61	1.62	170
W1-Ser169 (BB)	2.77	2.79	1.81	173
W2-W5	2.75	2.67	1.70	166
W3-W7	2.75	2.89	1.92	170
W3-W5	2.92	2.81	1.88	160
W4-Tyr161	2.87	2.72	1.74	175
W6-W5	2.78	2.71	1.73	170
W6-W7	2.86	2.74	1.76	178
W7-Tyr161	2.62	2.77	1.80	168
W7-Glu189	2.75	2.69	1.72	169
W8-Asp61	2.66	2.69	1.71	165
W8-W9	2.72	2.67	1.67	173
W9-W2	2.93	2.61	1.61	172
W10-O <sub>(1)</sub>	2.67	2.73	1.76	166
W10-W4	3.02	2.97	2.05	158
W11-O <sub>(4)</sub>	2.50	2.67	1.68	176
W11-Asp61	2.72	2.65	1.67	169
Ser169-W11	2.73	2.69	1.71	174
W16-W11	2.76	2.79	1.83	166
W16-W17	2.71	2.73	1.75	169
W17-Asp6 1 (BB)	2.72	2.75	1.79	166

<sup>a)</sup>The observed distances by HR XRD<sup>3)</sup>.

<sup>b)</sup>the optimized values by UB3LYP-D3/def2-TZVP.

とが判明した。この結果は本シリーズ<sup>17-19)</sup>で紹介してきた計算結果の信頼性を示すものである。

しかし、W16の周辺の水素結合ネットワークの構造最適化の目的にはモデルを13個の水を含むQM(282原子)に拡張してQM(282原子; def2-TZVP基底)/CPCMモデルにより構造最適化を実行する必要がある<sup>38)</sup>。得られた水素結合構造距離を表2にまとめた。最適化された重原子間(O...O)距離をみるとW1-Asp61, W8-Asp61の水素結合ペアが、さらにO<sub>(4)</sub>サイトと連結するW11に関係する3本の水素結合ペアも大変強固であることが理解され、初期のQM(380原子; Lan12DZ基底)/MM計算結果<sup>11-13)</sup>と整合する結果が得られた。表2よりS<sub>1</sub>状態ではW11-W16-W17の水素結合鎖に異常がみられない。従って、実験および理論計算はシアノバクテリアのPSIIのOECではS<sub>1</sub>からS<sub>2</sub>状態に遷移した場合にW16の周辺で動的構造変化が生じることを示唆している。今後、QM/MM/MD計算<sup>39)</sup>による動的機構の検討が期待される。

## 4. S<sub>2</sub> から S<sub>3</sub> への遷移過程の理論的研究

### 4.1. 水挿入過程の実験および理論的研究

Kokサイクル<sup>2)</sup>での酸素発生には2個の水分子の挿入が必要である。種々の実験結果からS<sub>2</sub>状態からS<sub>3</sub>状態への遷移で大きな構造変化が起こるので水分子挿入が起こる可能性が指摘されて来た。すでに、磯部らはHR XRD構造の発見<sup>3)</sup>直後の2012年にS<sub>2</sub>状態において上記2中間体が可能であることをQM/CPCM法による構造最適化により指摘し、さらに水分子が挿入された種々のS<sub>3</sub>中間体の構造最適化を実行していた<sup>35,40,41)</sup>。本シリーズ(7)<sup>42)</sup>で紹介したように2016年になってBerkeleyグループがSFX XFEL実験よりS<sub>3</sub>状態でも水が挿入されていないという論文<sup>43)</sup>を発表し、QM計算結果<sup>40,41)</sup>とは異なる結果となった。一方、2017年に岡山グループがSFX

XFEL実験(2.3 Åの分解能)<sup>6)</sup>よりS<sub>3</sub>状態で水が挿入され、挿入された水の酸素原子(O<sub>(6)</sub>)とO<sub>(5)</sub>との距離が1.5 Åと大変短くすでに酸素-酸素結合が生成していることを示唆した。しかし、筆者らは酸素-酸素結合が生成しているとCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターのS<sub>3</sub>状態でも価電子状態が(3443)に低下しEXAFSやXESの実験結果と整合しないことを指摘した<sup>44)</sup>。CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスターは強相関電子系なのでスピン・電荷・軌道・プロトン移動異性体の4個の自由度の視点から総合的に判断する必要がある<sup>20)</sup>。さらに、SFX XFEL実験の分解能が2.3 Åであることを考慮すると短いO<sub>(6)</sub>-O<sub>(5)</sub>間距離に実験誤差が含まれている可能性があり、少なくとも1.9 Å程度には伸びている可能性を指摘し未だ酸素-酸素結合は生成していないことを指摘した<sup>44)</sup>。その後(2018, 2019年)のSFX XFEL実験結果の進展<sup>7-10,24)</sup>は本シリーズ(9)<sup>18)</sup>, (10)<sup>19)</sup>で紹介したので本稿では省略する。

### 4.2. 水挿入過程のQM/MM計算

PSIIのS<sub>2</sub>からS<sub>3</sub>状態への遷移の過程で水がどのように挿入されるかに関しては幾つかのシナリオが考えられる<sup>40-48)</sup>。XRD構造<sup>3)</sup>とQM(380原子)/MM計算結果<sup>11-13)</sup>より水挿入経路に前述のWIP(O<sub>(1)</sub>チャンネル)が同定されたので、最初の水の挿入段階で反応サイトに挿入される水はCaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub>クラスター内に存在すると仮定することが可能であった。この視点では図1に示したようにCaイオンに配位しているW3が挿入される水分子と考えるのが自然である。すでに、本シリーズ(7)<sup>42)</sup>で磯部らにより検討された可能なS<sub>3</sub>中間体のQM/CPCM計算結果は紹介した。従って、次の段階ではCPCMではなくMMで蛋白場を露に考慮する必要がある。そこで、本稿では庄司らが2015年に図3に示すようにW3が反応サイトに挿入される反応過程を、蛋白場を考慮したQM/MM計算<sup>45)</sup>により追跡した結果を紹介する。図3では反応開始構造をP680ラジカルカチオンへの一電子移動

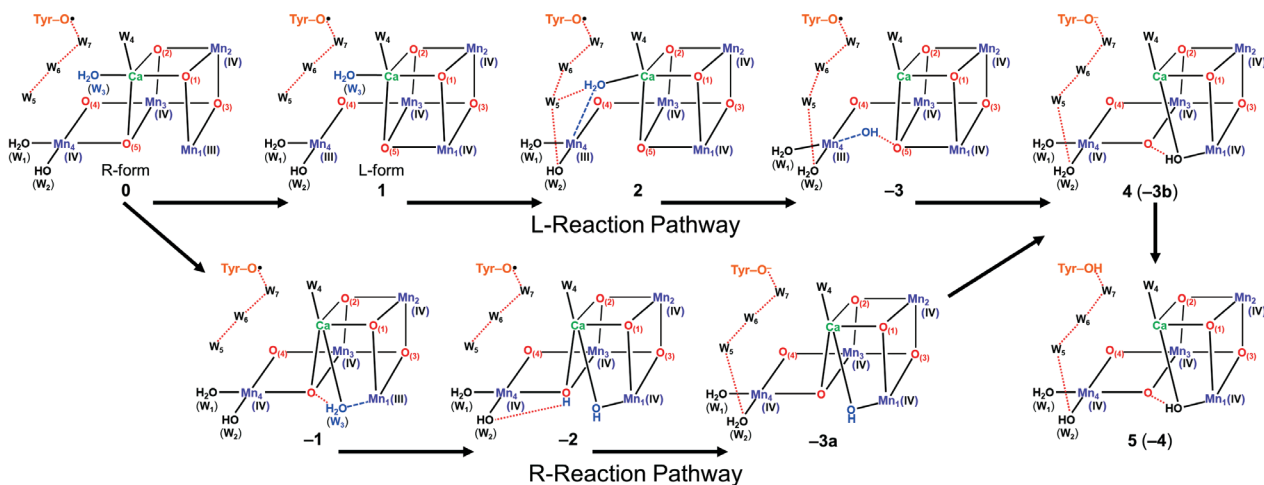


図3 QM/MM計算<sup>45)</sup>によりKokサイクルにおけるS<sub>2</sub> → S<sub>3</sub>遷移で解明されたGlosed-cubane (left(L)-opened) および Open-cubane (right(R)-opened) 型水分子(W3)挿入経路で形成される中間体および遷移状態の概念図。



(OET) により Tyr161-O•ラジカルが生成し, CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub> クラスターの状態は未だRight-open (Open cubane) S<sub>2</sub> 状態に取っている (この状態を開始状態0と表現する). PSIIのOECではTyr161-O•ラジカルからW7-W6-W5-W2-PRP-Iとその反対側にPRP-IIのプロトン放出経路が存在する.<sup>11-13)</sup> そこで, 左側からW3が挿入される場合には0構造がまずLeft-open (Closed-cubane) 構造 (この構造を1とする)<sup>34)</sup> に構造変化する必要がある. この変化のための遷移状態 (T<sup>0,1</sup>) 活性化エネルギーは図4に示すように13.3 kcal/molと計算され, 1は0と比較して3.9 kcal/mol不安定であることがわかる. 1からCaイオンに配位していたW3がMn4に配位した構造 (この状態を2と表現する) に変化するT<sup>1,2</sup>活性化エネルギーは小さく, 2は1と比較して6.6 kcal/molも安定である. 次に, 2の構造でW3からW3-W5-W2とプロトン移動反応が起き, 生成したOHアニオンがMn4に配位した構造 (この状態を3と表現する) に移行する遷移状態 (T<sup>2,3</sup>) 活性化エネルギーは14.3 kcal/molと計算され, 3は2と比較して5.4 kcal/mol不安定である. 3の構造ではOHアニオンの酸素原子とCaイオンの距離が短く, 配位構造を保持している. さらに, 3の構造では(3444)価数状態が安定で, Tyr161-O•ラジカルにOETさせて(4444)状態を生成しても逆電子移動して元に戻ることがわかった. 次に, Mn4に配位しているOHアニオンからO<sub>(5)</sub>サイトにプロトン移動反応が起き, それに伴いRight-open (Open cubane) な構造 (この状態を4と表現する) に構造変化し, さらにTyr161-O•ラジカルへのOETも可能になり(4444)価電子状態に移行することがわかった. このプロセスは0状態からみて15.4 kcal/molの活性化エネルギー (T<sup>3,4</sup>) を必要とするかなり複雑な反応なので詳細は省略する. 4で生成したTyr161-OアニオンにW2からプロトン移動してS<sub>3</sub>状態S<sub>3abca</sub>-OH中間体 (5) が得られる.<sup>45)</sup>

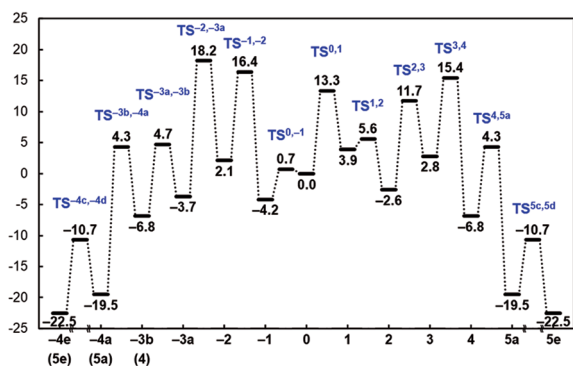


図4 QM/MM計算<sup>45)</sup>によりKokサイクルにおけるS<sub>2</sub>→S<sub>3</sub>遷移で解明されたClosed-cubane (left(L)-opened) およびOpen-cubane (right(R)-opened) 型水分子 (W3) 挿入経路で形成される中間体および遷移状態のエネルギーダイアグラム (kcal/mol).

一方, 右側からW3が挿入される場合には, Left-open (Closed-cubane) 構造への構造変化が必要なく, まずW3がMn1の近傍に移動した中間体 (この状態を-1と表現する) が形成される. -1の構造でも酸素-Caイオン間の距離は短くは配位状態に変化はない. 次に, 挿入されたW3からO<sub>(5)</sub>へのプロトン移動反応が起き, 生成したOHアニオンがMn4に配位した構造 (この状態を-2と表現する) が形成される. このプロセスは-1状態からみて20.6 kcal/molの活性化エネルギー (T<sup>3,4</sup>) を必要とするかなり複雑な反応なので詳細は省略する. 次に, -2構造のO<sub>(5)</sub>HからW2 (=OH) へのプロトン移動反応によりの-3中間体得られるがこの構造は左側経路で形成された4の構造と同じである. -2から-3に至る遷移状態 (T<sup>-2,-3</sup>) 活性化エネルギーは18.2 kcal/molと計算され, 右側経路で最大である. 4 (-3) から5への変化は右側経路でも同じである. このように, QM/MM計算結果<sup>45)</sup>ではS<sub>2</sub>からS<sub>3</sub>状態へ遷移に伴う水の挿入過程の活性化エネルギーは左右の経路で大きくは異ならないと言えよう, また, プロトン放出は図1のPRP IIが機能している可能性もあることがわかる.<sup>27)</sup>

水挿入過程に関しては上記以外にも幾つかの可能性があるが本稿では詳細は省略する.<sup>30,31,41)</sup> 例えば, 2015年当時Siegbahnの理論計算<sup>46)</sup>がすでに発表されており, Mn4に挿入された水からW2へのプロトン移動反応がO<sub>(5)</sub>サイトの前面に新しく挿入された水分子を媒介して起こる機構が提案されていた. しかし, HR XRD構造<sup>3)</sup>やQM(380原子)/MM計算結果<sup>11-13)</sup>でO<sub>(5)</sub>サイトの前面にはVal185分子が存在し, そこに水分子を新しく挿入することは出来ないことが判明していたので, Siegbahn機構<sup>46)</sup>にはモデル設定において無理があることを指摘し, 上記のように異なる機構を提案することになった. PSIIのように複雑な反応系では理論計算のみで全てを予想するのは困難であり, 実験と理論の共同<sup>20,32)</sup>が不可欠であるといえよう, すでに, 石北は光合成系の酸化還元電位の計算に関係してこの点を強調している.<sup>47)</sup>

#### 4.3. 相対安定性再訪

本シリーズ (12)<sup>1)</sup>で示したようにS<sub>3</sub>状態での水の挿入過程で生成したS<sub>3abca</sub>(R)-OH (Mn1にOH<sup>-</sup>が挿入した構造) とS<sub>3abca</sub>(L)-OH (Mn4にOH<sup>-</sup>が挿入した構造) のエネルギー差をQM(103原子)/CPCMモデルに基づきDLPNO CCSD (T<sub>0</sub>)/CPCM計算により検討すると後者の方が少し安定であった. しかし, QM(226原子)モデルに拡大しDLPNO CCSD (T<sub>0</sub>)/CPCM計算を実行すると前者の方が9.9 kcal/mol安定であることが判明し, 実在系に近いモデルの重要性が判明した. さらに, 同計算ではS<sub>3abca</sub>(R)-OH構造 (Mn-hydroxide) はプロトン移動異性体であるMn-Oxyl構造よりも13.1 kcal/mol安定であった. 従って, S<sub>3</sub>状態で最も安定な中間体は絶対零度

ではopen-cubane(R)型のMn-hydroxideであると結論される。<sup>48)</sup> この結果はPSIIのOECに関する極低温での測定結果であるEPR実験結果と整合する(本シリーズ(12)<sup>1)</sup>参照). BerkeleyグループのXFEL実験結果<sup>5,7-10)</sup>から判断すると高熱性シアノバクテリアではその蛋白場の効果により室温でも右側挿入経路(Open-cubane構造)が優先することがわかる. さらに, 最近のDLPNO CCSD (T<sub>0</sub>)/CPCM計算結果では生成した中間体もMn-hydroxide (O<sub>x</sub> = OH<sup>-</sup>)の成分が多いことが結論される。<sup>48)</sup> この結果はXES実験によるS<sub>3</sub>状態での価電子状態(4444)とも矛盾しない.

## 5. おわりに

本稿で再訪したようにS<sub>1</sub>状態のHR XRD結果に基づくLarge-scale QM/MM<sup>11-13)</sup>計算により予想されたW1-W27より構成される水挿入経路やプロトン放出経路は最近のS<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>状態のSFX-XFEL<sup>7-10, 24)</sup>の実験結果と整合していることが判明した. さらに, 最近DLPNO CCSD (T<sub>0</sub>)計算はS<sub>3</sub>状態での幾つかの中間体の相対エネルギーを解明し, open-cubane(R)型のMn-hydroxideが最安定の構造であることを示した。<sup>48)</sup> 本シリーズの研究の進め方とは逆に全系, 即ちチラコイド膜に埋め込まれたPSIIの構造, 機能, 動力学を分子動力学(MD)計算<sup>49-54)</sup>により解明する研究が進んでいるので本稿と関連する部分について紹介する. まず, MD計算<sup>49-54)</sup>によれば, CaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub>クラスターの周辺にある水素結合ネットワークはチャンネル構造的に安定でありMD計算中に崩壊することはない. 従って, 少なくともW1-W30の汎用名はKokサイクルにおける静的および動的構造の変化の解析に有用である. さらに, 本稿<sup>11)</sup>でのPRP IIはMD計算<sup>52)</sup>ではTyr161からPsbVに至る経路, Path 1に相当する. さらに, PRP I (D1, D2)はMD計算<sup>52)</sup>ではPath 2-1, 2-2に対応している. また, PRP IIIはMD計算<sup>52)</sup>ではPath 3に対応している. このように, QM/MM計算<sup>11-13)</sup>の結果とMD計算<sup>52)</sup>の結果は良く整合している. しかし, MD計算<sup>52)</sup>の結果はCaMn<sub>4</sub>O<sub>6</sub>クラスターから遠いPsbVやPsbOの周辺では水分子の数も揺らいでおり動的挙動が顕著であることより, QM/MM/MD計算<sup>39)</sup>の必要性を示している. さらに, 最近のMD計算<sup>52)</sup>では5本の水の流入経路が提案されているが, その1および5は本稿のWIP (A, B, C)<sup>11-13, 25, 33)</sup>に対応している. 従って, MD計算とQM/MM計算は相補的にPSIIのOECにおける水分解反応機構の解明に有効である.

## 謝辞

PSIIのHR XRD構造<sup>3)</sup>における水分子の汎用名や水素結合ネットワークの検討<sup>11-13)</sup>にお世話になった梅名泰史博士(当時), 川上恵典博士に感謝する. しかしながら,

本稿で紹介したようにXFEL法による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推論結果<sup>48)</sup>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

- 1) 山口 兆, 宮川晃一, 庄司光男, 磯部 寛, 川上貴資, 中嶋隆人, *豊田研究報告書*, **75** (2022) 107-128.
- 2) B. Kok, B. Forbush and M. McGloin, *Photochem. Photobiol.*, **11** (1970) 457-475.
- 3) Y. Umena, K. Kawakami, J.-R. Shen and N. Kamiya, *Nature*, **473** (2011) 55-60.
- 4) A. Tanaka, M. 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) M. Ibrahim, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **117** (2020) 12624-12635.
- 9) R. Hussein, *et al.*, *Nat. Commun.*, **12** (2021) 6531.
- 10) P.S. Simon, *et al.*, *FEBS Lett.*, **597** (2023) 30-37.
- 11) M. Shoji, *et al.*, *Catal. Sci. Technol.*, **3** (2013) 1831-1848.
- 12) M. Shoji, *et al.*, *Mol. Phys.*, **113** (2015) 359-384.
- 13) M. Shoji, *et al.*, *Adv. Quant. Chem.*, **70** (2015) 325-413.
- 14) 山口 兆, 庄司光男, 齊藤 徹, 磯部 寛, 山中秀介, *豊田研究報告書*, **65** (2012) 9-19.
- 15) 山口 兆, 齊藤 徹, 磯部 寛, 山中秀介, *豊田研究報告書*, **64** (2011) 37-51.
- 16) C. Riplinger and F. Neese, *J. Chem. Phys.*, **138** (2013) 034106.
- 17) M. Saitow, U. Becker, C. Riplinger, E. F. Valeev and F. Neese, *J. Chem. Phys.*, **146** (2017) 164105.
- 18) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 川上貴資, 宮川晃一, 中嶋隆人, *豊田研究報告書*, **72** (2019) 131-151.
- 19) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 川上貴資, 宮川晃一, 中嶋隆人, *豊田研究報告書*, **73** (2020) 113-130.
- 20) K. Yamaguchi, *et al.*, *Coord. Chem. Rev.*, **471** (2022) 214742.
- 21) M. Suga, F. Akita, K. Hirata, G. Ueno, H. Murakami, Y. Nakajima, T. Shimizu, K. Yamashita, M. Yamamoto, H. Ago and J.-R. Shen, *Nature*, **517** (2015) 99-103.
- 22) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 山中秀介, 中嶋隆人, *豊田研究報告書*, **68** (2015) 63-84.
- 23) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 山中秀介, 中嶋隆人, *豊田研究報告書*, **66** (2013) 1-20.
- 24) H. Li, *et al.*, *IUCrJ*, **8** (2021) 431-443.
- 25) A. Guskov, J. Kern, A. Gabdulkhakov, M. Broser, A. Zouni and W. Saenger, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **16** (2009) 334-342.



- 26) M. Yamamoto, S. Nakamura and T. Noguchi, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **22** (2020) 24213.
- 27) Y. Shimada, A. Sugiyama, R. Nagao and T. Noguchi, *J. Phys. Chem. B*, **126** (2022) 8202-8213.
- 28) H. Kuroda, *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1862** (2021) 148329.
- 29) J.-R. Shen, *Bull. Jpn. Soc. Coord. Chem.*, **72** (2018) 3-14.
- 30) J. Wang, M. Askerka, G. W. Brudvig and V. S. Batista, *ACS Energy Lett.*, **2** (2017) 2299-2306.
- 31) Y. Guo, J. Messinger, L. Kloo and L. Sun, *J. Am. Chem. Soc.*, **144** (2022) 11736-11747.
- 32) M. Shoji, *et al.*, *Adv. Quant. Chem.*, **78** (2019) 307-451.
- 33) 梅名泰史, *日本結晶学会誌*, **54** (2012) 247-254.
- 34) M. Shoji, H. Isobe, Y. Shigeta, T. Nakajima and K. Yamaguchi, *J. Phys. Chem. B*, **122** (2018) 6491-6502.
- 35) H. Isobe, M. Shoji, S. Yamanaka, Y. Umena, K. Kawakami, N. Kamiya, J.-R. Shen and K. Yamaguchi, *Dalton Trans.*, **41** (2012) 13727-13740.
- 36) S. Yamanaka, K. Kanda, T. Saito, Y. Umena, K. Kawakami, J.-R. Shen, N. Kamiya, M. Okumura, H. Nakamura and K. Yamaguchi, *Adv. Quant. Chem.*, **64** (2012) 121-187.
- 37) K. Miyagawa, S. Yamanaka, H. Isobe, M. Shoji, T. Kawakami, M. Taniguchi, M. Okumura and K. Yamaguchi, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **22** (2020) 27191-27205.
- 38) K. Miyagawa, M. Shoji, H. Isobe, T. Kawakami, T. Nakajima and K. Yamaguchi, *Chem. Phys. Lett.*, **793** (2022) 139439.
- 39) T. Saito and Y. Takano, *ChemPhysChem*, **22** (2021) 561-568.
- 40) H. Isobe, M. Shoji, S. Yamanaka, H. Mino, Y. Umena, K. Kawakami, N. Kamiya, J.-R. Shen and K. Yamaguchi, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **16** (2014) 11911-11923.
- 41) H. Isobe, M. Shoji, J.-R. Shen and K. Yamaguchi, *Inorg. Chem.*, **55** (2016) 502-511.
- 42) 山口 兆, 庄司光男, 磯部 寛, 山中秀介, 川上貴資, 中嶋隆人, *豊田研究報告書*, **70** (2017) 85-106.
- 43) I. D. Young, *et al.*, *Nature*, **540** (2016) 453-457.
- 44) K. Yamaguchi, *et al.*, *Mol. Phys.*, **116** (2018) 717-745.
- 45) M. Shoji, H. Isobe and K. Yamaguchi, *Chem. Phys. Lett.*, **636** (2015) 172-179.
- 46) P. E. M. Siegbahn, *Biochim. Biophys. Acta*, **1827** (2013) 1003-1019.
- 47) 石北 央, *生物物理*, **50** (2010) 286-289.
- 48) K. Yamaguchi, *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, **806** (2022) 140042.
- 49) S. Vasil'ev and D. Bruce, *Biophys. J.*, **90** (2006) 3062-3073.
- 50) S. Vassiliev and D. Bruce, *Photosynth. Res.*, **97** (2008) 75-89.
- 51) S. Vassiliev, P. Comte, A. Mahboob and D. Bruce, *Biochemistry*, **49** (2010) 1873-1881.
- 52) K. Ogata, T. Yuki, M. Hatakeyama, W. Uchida and S. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.*, **135** (2013) 15670-15673.
- 53) S. Nakamura, K. Ota, Y. Shibuya and T. Noguchi, *Biochemistry*, **55** (2016) 597-607.
- 54) K. Ogata, M. Hatakeyama, Y. Sakamoto and S. Nakamura, *J. Phys. Chem. B*, **123** (2019) 6444-6452.
- 55) A. Sirohiwal and D. A. Pantazis, *J. Am. Chem. Soc.*, **144** (2022) 22035-22050.