

解説

水分解酸素反応を可能とさせるPhotosystem IIにおける クロロフィル上の電荷配置[‡]

¹京都大学 生命科学系キャリアパス形成ユニット

²JSTさがけ「光エネルギーと物質変換」領域

石北 央^{1,2,*}、斉藤 圭亮¹

1. はじめに

光合成反応では、太陽光の光エネルギーを生物が利用しやすい電気化学エネルギーに変換する。この過程は、生体膜中の光合成反応中心蛋白質で行われる。シアノバクテリアから高等植物では、Photosystem II (PSII) と Photosystem I (PSI) の二つの反応中心蛋白質が共役して行う(図1)。PSIIの反応中心ではクロロフィル (Chl) 二量体が一対(PSIIではP680)、その近傍に単量体のChl (アクセサリーChl) 1対、フェオフィチン(Pheo)1対、キノン (Q) 1対、そして非ヘム鉄が存在する。これらは、Chl二量体の中点と非ヘム鉄を結

ぶ疑似 C_2 対称軸に配置されているため、二つの電子移動経路が存在するように見える。しかし、実際の電子移動は、一方の電子移動経路 (PSII : D1) でのみ観測され、もう一方の電子移動経路 (PSII : D2) は不活性である。PSIでも同様なコファクター配置が見受けられる (例えばP700と呼ばれるChl二量体を持つ) が、Pheoの代わりにChl、非ヘム鉄の代わりに3つの鉄・硫黄クラスターが存在する。さらに、疑似 C_2 対称軸に対して存在する二つの電子移動経路共に電子移動活性がある¹⁾。なお、PSIIのP680はP_{D1}とP_{D2}、PSIのP700はP_AとP_B、と呼ばれるChl単量体のペアである。

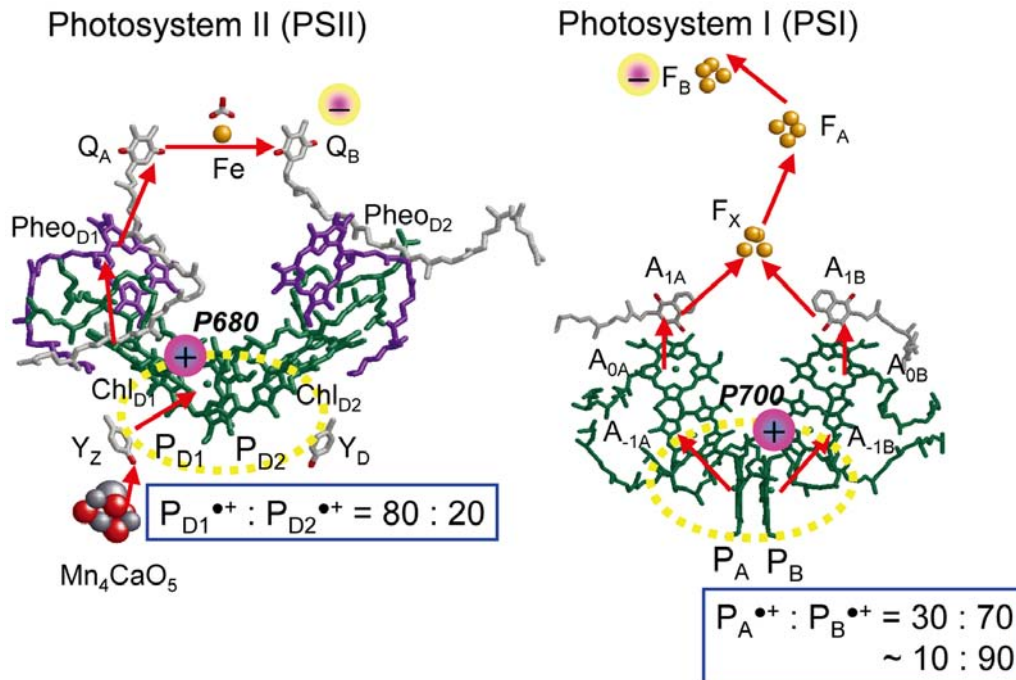


図1 PSI (右)、PSII (左) の光合成反応中心における酸化還元活性コファクターの配置および電子移動経路 (赤矢印)。

[‡] 解説特集「光合成の光エネルギー変換メカニズム —物理学的手法によるアプローチ—」

* 連絡先 E-mail: hiro@cp.kyoto-u.ac.jp

(D1 / D2、A / B、は、各々のChl単量体が存在する蛋白質サブユニット名である。)

私たちは、蛋白質立体構造を理論化学的手法で解析することにより、「蛋白質の構造と機能の関係」を明らかにすべく研究を行っている。ここでは、最新のPSII高分解能 (1.9 Å) 結晶構造²⁾をもとにPSIIを解析することで明らかになった、「PSII蛋白質環境がP_{D1} / P_{D2} クロロフィルのエンジェティクスに与える影響」について述べる。

2. PSIIおよびPSI反応中心における実験的手法によるクロロフィルの正電荷分布測定

PSIIにおける水分解反応は、反応中心に存在するクロロフィルP680における光励起・電荷分離反応によって開始される。電荷分離反応では電子がPheoからQへと流れていくのに対し、正電荷はクロロフィル上、特にP_{D1}/P_{D2}のクロロフィル2量体上に分布する。ENDOR測定によるとspinach PSIIでは(P_{D1}, P_{D2}を区別はしていないが) P_{D1}もしくはP_{D2}のいずれかに82 %のスピンの局在化する³⁾。後の*Synechocystis* 6803 PSII coreにおける吸収スペクトルによる解析では、大部分の正電荷はP_{D1}側に存在することが示唆された⁴⁾。以上の二つの解析結果を勘案すれば、P_{D1}、P_{D2}における電荷(スピン)分布は、P_{D1}⁺/P_{D2}⁺ = ~80 / 20のように帰属できるだろう⁴⁾(注; ここではスピンと電荷の分布は、ほぼ同義であると見なして良い)。FTIRによる*Thermosynechococcus elongatus* のPSII coreにおける解析でも同様にP_{D1}もしくはP_{D2}のいずれかに70-80%の正電荷がある、との結論が得られている⁵⁾(P680⁺/P680のFTIRスペクトルに関しては文献⁶⁾も参照)。

これに対し、PSIにおけるP700光励起後のスピン分布比は、P_A/P_B = 15 / 85 ~ 25 / 75 (3, 7, 8)となっている。FTIRでは、電荷分布比P_A⁺/P_B⁺ = 33 / 67 ~ 50 / 50 と決定されている⁹⁾。

3. PSII反応中心クロロフィル上の正電荷分布の解析

PSIIとPSIの電子移動の様子は大きく異なるため(図1)、電子移動のエンジェティクスの違いを議論するためにも、正電荷のP_{D1} / P_{D2}、P_A / P_B上での分布のエンジェティクスは明らかにすべきである。しかし、正電荷やスピンの分布比測定値そのものは以前から知られているものの、そのような分布比である理

由や、蛋白質内の特定のアミノ酸残基やコファクターからの寄与を明示した論文は皆無であった。

私たちは最新の*Thermosynechococcus vulcanus* (*T. vulcanus*) 由来のPSII高分解能 (1.9 Å) 結晶構造²⁾の原子配置において、quantum mechanical / molecular mechanical (QM / MM) approachを用い、結晶構造中の全てのアミノ酸残基、コファクター存在下で、P_{D1} / P_{D2}クロロフィル2量体上における正電荷およびスピン分布を計算した。その結果として、PSII全原子存在下において、電荷分布比P_{D1}⁺ / P_{D2}⁺ = 77 / 23、スピン分布比P_{D1} / P_{D2} = 81 / 19を得た¹⁰⁾。これらの値は、実験的手法による測定値^{3, 4)}と良い一致を見せた。*T. vulcanus* PSII のD1 / D2サブユニットのアミノ酸配列は*T. elongatus* のそれと極めて近い。したがって、*T. elongatus* PSII core におけるFTIR解析で見られた70-80%の正電荷^{5, 6)}の正体は、今回の計算結果から、「P_{D1}⁺である」と結論づけるのが妥当である。過去の文献⁵⁾に指摘されているように、ここでも電荷分布はスピン分布に比べて(わずかではあるが)両クロロフィル分子間全体により非局在化している様子が見て取れる。なお、私たちの計算では、P_{D1} / P_{D2}クロロフィルを量子化学的に取り扱っている。従って、PSII内の全アミノ酸残基やクロロフィル等のコファクターのみならず、P_{D1}、P_{D2}の構造の影響(P_{D1} / P_{D2}両クロロフィル分子間のビニル基、エチル基、フィトル鎖の配向の違いによる影響²⁾)も当然、電荷分布への寄与として計算に取り込まれている(詳細は文献¹⁰⁾参照)。

PSII蛋白質環境を全て取り払い、P_{D1} / P_{D2} だけが存在する状態でQM / MM計算を行うと、電荷分布比P_{D1}⁺ / P_{D2}⁺ = 57 / 43となり、P_{D1}⁺の割合が大幅に減少した¹⁰⁾。つまり、PSII蛋白質環境からの相互作用がない場では正電荷は両クロロフィルにかなり均等に分布する。従って、(P_{D1}⁺ / P_{D2}⁺ = 77 / 23のように)非対称的に分布させる原因は、PSII蛋白質環境にあることが実証された。具体的にPSII蛋白質のどの要素・部位がP_{D1} / P_{D2} に影響を与えるかを調べるため、私たちは、D1 / D2 サブユニットとそこに埋め込まれたコファクターを残し、それ以外の原子をPSII蛋白質結晶構造から全て除去することで「D1/D2 PSII」を作った。得られたD1/D2 PSIIに対してQM / MM計算を行った。D1/D2 PSIIでは、P_{D1}⁺ / P_{D2}⁺ = 72 / 28、スピン分布比P_{D1} / P_{D2} = 76 / 24との結果を得た¹⁰⁾。依然として電荷、スピン共に圧倒的にP_{D1}側に局在化しているた

め、電荷・スピンの非対称分布の根源は D1 / D2 蛋白質にあることは確定的である。

なお、D1 / D2 PSII を作成するには、近接するサブユニットCP43やCP47も除去する必要がある。しかし、CP43はMn₄CaO₅のO原子と近接するCP43-Arg357やMn原子のリガンドとなるCP43-Glu354をもつため、現実の系でCP43を取り除けば少なくともMn₄CaO₅周辺の構造はintactなPSIIに比べて大きく変化するの間違いはない。同時に、電荷のバランスも崩れたりバルク溶液への露出度も変化するのでMn₄CaO₅周辺の解離性アミノ酸残基のprotonation状態も大きく変わるだろう。また、Y_D (D2-Tyr160) は水素結合ネットワークを介してD2-Arg294とつながっているが、このArgはさらにCP47-Glu364とsalt-bridgeを形成し、サブユニット間をつなぐ相互作用の一助となっている。CP47の除去は、Y_D周辺の水素結合ネットワークを乱すことになり、新たにバルク水に露出することになるD1 / D2蛋白質の表面構造は大きくリラックスする(ゆるむ)はずである。残念ながら、これに準じる蛋白質の結晶構造は現在のところ公開されておらず、起こりうる構造変化の詳細は不明である。私たちは、あくまでもintactなPSII内での相互作用を明らかにすることに興味があるので、「D1 / D2 PSII」作成においても、intact PSIIと同じ原子座標・解離性残基のprotonation状態を用いた。また、現実の系ではサブユニット除去に伴いMn₄CaO₅の構造も不安定になることが予想される。一方、私たちはサブユニット除去における電荷分布比P_{D1}⁺ / P_{D2}⁺ への影響が何より知りたかったため、CP43-Glu354とCP43-Arg357のCβ炭素をメチル化してその側鎖部位を系に含めた(つまりMn₄CaO₅配位子場環境はintact PSIIと同じである)。D1, D2, cytochrome b559, PsbIのみで構成されるRC complexのFTIR測定では、P_{D1}⁺ / P_{D2}⁺ ≈ 50 / 50であることがわかっている^{5,11)}。おそらくRC complexでは上述したような変化により、本来のintactなPSIIと異なるP_{D1} / P_{D2} 周辺環境を持つことが予想される。

4. PSII機能に重要といわれているD1/D2アミノ酸残基こそ非対称電荷分布の根源

D1 / D2 蛋白質のアミノ酸配列は比較的良好に似ているが、明らかにアミノ酸ペアの性質が異なる箇所が見受けられる。それらは、突き詰めればMn₄CaO₅がD1側に位置することに起因すると考えられる。D1側

では金属性のMn₄CaO₅を保持するため負電荷を帯びた酸性アミノ酸残基が明らかに多く分布する。一方、対応するD2側は、中性・塩基性アミノ酸残基であることが多い。そういったアミノ酸ペアがPSII蛋白質内においてP_{D1}⁺ を (P_{D2}⁺ に対して) 相対的に安定化させることで、P_{D1}⁺ / P_{D2}⁺ = 77 / 23という分布比を生み出していることが私たちの解析により明らかとなった。特に大きな影響力を与えているペアとして以下のものが挙げられる。D1-Asn181/D2-Arg180, D1-Asn298/D2-Arg294, D1-Asp61/D2-His61。電位計算の結果、これらのアミノ酸はPD1、PD2両クロロフィルの電位に40 mV以上も差を生じさせる原因となっていた¹⁰⁾。D2-Arg180変異体ではP680⁺とQ_A間の電荷再結合の様子が大きく変わることが知られている¹²⁾。D2-Arg294変異体は光阻害を受けやすい¹³⁾。さらにD1-Asn298 / D2-Arg294はそれぞれY_Z / Y_Dと水素結合ネットワークを形成しており、Y_ZとY_Dの電位差の一要因となっている¹⁴⁾。またD1-Asp61は、水分解反応で放出されるプロトンH⁺の排出パスの一部である^{15,16)}。以上のようにこれらのアミノ酸はintactなPSIIでの機能、特に水分解反応との関連も深いことから、電荷分布比P_{D1}⁺ / P_{D2}⁺ = 77 / 23は水分解可能なintactなPSIIにおいて当然の帰結、と結論づけられる¹⁰⁾。

5. PSI反応中心クロロフィル上の正電荷分布

同様の解析をPSIのP700を構成する P_A / P_B クロロフィルについて行った。T. *elongatus*由来のPSI結晶構造(分解能2.5 Å)¹⁷⁾の原子配置においてQM/MM計算を行ったところ、私たちは電荷分布比P_A⁺ / P_B⁺ = 28 / 72、スピン分布比P_A / P_B = 22 / 78という結果を得た¹⁸⁾。この結果はスピン分布比P_A / P_B = 15 / 85 ~ 25 / 75^{3,7,8)}に近いといえる。また、FTIRによる電荷分布比のうちP_A⁺ / P_B⁺ = 33 / 67⁹⁾に関しては今回得られた値に近い。PSIのP700におけるFTIR測定による電荷分布比とEPR測定によるスピン分布比の差は、(いくつかの文献で強調されているような)「食い違い」ではなく、「電荷分布はスピン分布よりも非局在化傾向にある」だけであり、本質的には同一の事象であることが今回の計算結果から示唆される。

PSIIではD1/D2アミノ酸ペアでP_{D1}、P_{D2}の電位差を増大させるようなペアが複数存在した。これに対し、PSIでは、P_AとP_Bの電位差|E_m(P_A) - E_m(P_B)|を大きく生じさせるようなPsaA / PsaBアミノ酸ペアはほと

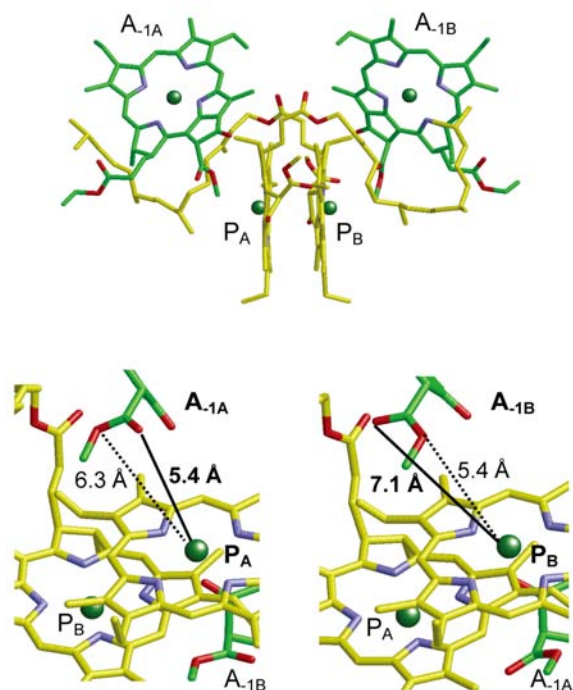


図2 (上) PSIにおけるクロロフィル2量体 P_A / P_B に対するアクセサリクロロフィル A_{-1A} 、 A_{-1B} の位置関係。(左下) A_{-1A} のmethyl-ester基と P_A との位置関係。methyl-ester基のcarbonyl酸素と Mg^{2+} との距離を太線で示す。また、ester酸素と Mg^{2+} との距離を点線で示す。(右下) A_{-1B} のmethyl-ester基と P_B との位置関係。

んど存在しない。 $E_m(P_A) > E_m(P_B)$ に最も寄与しているペアはArg-A750 / Ser-B734であるが、それでも17 mV程度である¹⁸⁾。

一方 $E_m(P_A) < E_m(P_B)$ に最も寄与しているペアは、意外にもアクセサリクロロフィル A_{-1A} 、 A_{-1B} (28 mV) であった¹⁸⁾。さらに興味深いことに、これらのアクセサリクロロフィル A_{-1A} 、 A_{-1B} の存在は P_A と P_B の電位を下げる(= P_A^{*+} 、 P_B^{*+} を安定化させている)要因であることも今回初めて示された。それについて以下詳述する。

私たちの研究で初めて指摘した事実であるが¹⁸⁾、実はPSI結晶構造(分解能2.5 Å)¹⁷⁾では、クロロフィルのmethyl-ester基の配向が A_{-1A} と A_{-1B} において真逆である(図2)。A側においては、 P_A の Mg^{2+} に対して、 A_{-1A} のmethyl-ester基を構成するcarbonyl酸素がより近い位置(5.4 Å)に存在し、ester酸素がより遠い位置(6.3 Å)に存在する。ところがB側では、 P_B の Mg^{2+} に対して、 A_{-1B} のmethyl-ester基を構成するcarbonyl酸素はより遠い位置(7.1 Å)に存在し、ester酸素がより近い位置(5.4 Å)に存在する¹⁸⁾。つまり、(i) A_{-1A} 、 A_{-1B} の

methyl-ester基の極性酸素が、 P_A^{*+} 、 P_B^{*+} 上の正電荷を安定させることができるため、 P_A と P_B の電位を下げるのが可能である。さらに、(ii) carbonyl酸素の方がester酸素より極性が高いため、 P_A^{*+} の方が、 P_B^{*+} よりも安定化効果を受けやすい。

もし、 A_{-1A} 、 A_{-1B} のmethyl-ester基がPSI蛋白質環境内で自由に回転できるのなら、methyl-ester基の配向の違いに応じて異なった電荷分布比 P_A^{*+} / P_B^{*+} のバリエーションがあってもよいはずである。その考えに基づいて A_{-1A} 、 A_{-1B} のmethyl-ester基の配向を完全に反転させたコンフォメーションで計算を行うと、 A_{-1B} のcarbonyl酸素近接効果により P_B^{*+} がより安定化するので、電荷分布比 $P_A^{*+} / P_B^{*+} = 22 / 78$ 、スピン分布比 $P_A / P_B = 15 / 85$ を得る¹⁸⁾。興味深いことに、このスピン分布比は、*T. elongatus* PSIの $P_A / P_B = 15 / 85$ ⁸⁾と(偶然かもしれないが)非常に近い。EPR測定によるスピン分布比に、 $P_A / P_B = 15 / 85 \sim 25 / 75$ ^{3,7,8)}のように幅が見られることは、種や測定条件の違いだけでなく、もしかしたらこのような P_A / P_B 近傍のコンフォメーションがいくつか存在することに起因しているのかもしれない。なお、methyl-ester基のcarbonyl酸素とester酸素との区別は、分解能2.5 Åのこの構造では十分に可能であり、少なくとも結晶構造内ではこのコンフォメーションをとっていることは確実である(W. Saenger, Free University of Berlin, personal communication, 2011)。分解能2.5 Åあたりから結晶水は徐々に見えてくるので、もしかしたら未だ同定されていない結晶水が存在し、 A_{-1A} 、 A_{-1B} のmethyl-ester基の向きを指定しているのかもしれない。

上述したように、PSIでは、 $PsaA / PsaB$ 両サブユニット間において蛋白質の静電的性質に大きな差がない。そのため、電荷分布比 P_A^{*+} / P_B^{*+} は、静電場環境よりも、クロロフィル分子への水素結合の有無やクロロフィル分子骨格といった、 P_A / P_B クロロフィル分子の内部エネルギーに左右される。Thr-A743から P_A への水素結合は、水素結合の中でも決して強くはないが、 P_A のエネルギーは影響を受ける。また、Chl *a*のC132異性体である P_A は、(天然に多く存在するのは異性体ではないChl *a*であることから想像できるように)通常のChl *a*と比べれば(大きくないものの)わずかにエネルギーは高いはずである。これを踏まえた上で改めてPSIIを見れば、非対称な電荷分布状態 $P_{D1}^{*+} / P_{D2}^{*+} = 77 / 23$ を作り出すPSII蛋白質の静電的性

質は、D1とD2においていかに大きく異なっているか明らかであり、対照的である。PSI、PSII両蛋白質の電子移動経路との関連からも、上述の点は今後更に考慮すべき特徴なのかもしれない。

6. おわりに 「計算」「実験」「机上の空論」

多くの蛋白質研究にとって、蛋白質の立体構造は重要である。たいていの場合は、構造を「眺める」、せいぜい「原子間距離を測る」ことで十分である。一方、原子間の相互作用は、系に原子が2個以上存在すれば必ず存在する。そして、原子間相互作用は、原子種や原子の相互配置（座標）が決まれば、物理・化学の法則により一義的に決まるはずである。それが成り立たないのなら、たとえば、高校や大学教養の授業で物理・化学の法則を習うことは無意味になってしまう。

つまり、蛋白質立体構造の適切な原子座標が得られれば、本来そこにはすでに「蛋白質内における原子、アミノ酸残基、コファクター間の相互作用」が存在していることになる。（あまりに不安定な力が存在しているのなら、そもそも蛋白質はその形で結晶化しない。）私たちの理論化学的手法では、単に、個々の計算手法の長所・短所（適応範囲）を見極め、適切に運用して「蛋白質」の物理化学的性質に関するデータを得ているに過ぎない。従って、計算によって得られたデータは、純粋に蛋白質結晶構造に基づいているものであり、また、その結果はあくまで「利用した結晶構造」の性質を反映しているものである。たとえば、結晶構造の信頼性が低く明らかに原子の置き方にミスがある場合は、得られた計算結果もおかしな結果を示すことが多い。計算結果は何らマジックやスペキュレーション、妄想ではなく、あくまで利用している構造情報を反映しているものだということを強調しておきたい。

蛋白質立体構造に基づいた理論化学的手法による研究の現実は、「対象に応じて適切な手法を選択し組み合わせる研究を進めていく実験的研究」と全く同じプロセスである。計算結果が「机上の空論」となってしまう場合とは、(1) 適応範囲を超えた計算手法の運用をした場合、(2) 得られた結果の解釈の不適切さ、である場合がほとんどである。ここで、「計算手法」を「実験手法」に置き換えて考えてみれば、実験研究においても同様に当てはまること、と理解

していただけると思う。上記 (1) には、「一つの実験的手法で全てが解き明かされるわけではない」ように「一つの計算手法でオールマイティなものはない」ということも含まれる。上記 (2) に関しては、検証作業の重要性が挙げられる。重要な検証作業の一つとして、私たちはかなりの時間を蛋白質構造を見ることだけに費やす。大変シンプルで当たり前の作業ではあるが、「得られた計算結果は必ず構造から説明できる」必要があり、「予期せぬ計算結果」が得られている場合は、たいてい計算過程に何らかの問題（入力ミス、あるいは適用した手法の不適切さ等）がある場合が多い。

しかし、「予期せぬ計算結果」が出ても正しい場合もある（注；ミスを一切していないという前提において）。人間の感覚は概して主観的なものである。蛋白質の立体構造を眺める際も、既存の論文で（根拠が弱くても）主張されている説があれば、ついそれを念頭に置いて見てしまいがちである。その点、計算的手法を立体構造に適用すれば、主観の陰に隠れてしまうような相互作用でも、客観的に、システマティックに考慮される。「予期せぬ計算結果」に疑いをもちつつも改めて構造を眺めると、確かに構造はそう語っており、己の主観とはいかに危険であるか、再認識させられる。また、そういった場合こそ大きな発見であることがしばしばである。たとえば、今回PSIの解析結果として、 A_{-1A} 、 A_{-1B} が P_A 、 P_B の電位を下げ、さらにmethyl-esterの配向が対称的でないことによりその影響力が異なっていたことを報告した。PSIの結晶構造¹⁷⁾が2001年に発表されてからすでに10年たつが、いったいこの間何人がこの事実を指摘して実際に研究を行ったであろうか。いきなりこの計算結果を持ち出せばにわかに信じがたいことかもしれないが、構造を改めて見れば誰でも納得できる極めて単純なことである。このように私たちは「計算を通して構造をさらに解釈する」姿勢で研究を進めていきたい。このような、単純ではあるが誰も指摘できなかった小さな「コロブスの卵」を積み重ねていくことこそ、サイエンスには大切だと私たちは考える。先入観を持たずにサイエンスをしていかなくは、と自戒してやまない。

謝辞

第2回日本光合成学会公開シンポジウムでの講演

(2011年6月3日)の機会を与えてくださいました野口巧先生(名古屋大学)、池内昌彦先生(東京大学)に感謝いたします。

Received October 25, 2011, Accepted October 28, 2011,
Published December 31, 2011

参考文献

- Guergova-Kuras, M., Boudreaux, B., Joliot, A., Joliot, P., and Redding, K. (2001) Evidence for two active branches for electron transfer in photosystem I, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 4437-4442.
- Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.-R., and Kamiya, N. (2011) Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at 1.9 Å resolution, *Nature* 473, 55-60.
- Rigby, S. E. J., Nugent, J. H. A., and O'Malley, P. J. (1994) ENDOR and special triple resonance studies of chlorophyll cation radicals in photosystem 2, *Biochemistry* 33, 10043-10050.
- Diner, B. A., Schlodder, E., Nixon, P. J., Coleman, W. J., Rappaport, F., Lavergne, J., Vermaas, W. F. J., and Chisholm, D. A. (2001) Site-directed mutations at D1-His198 and D2-His197 of photosystem II in *Synechocystis* PCC 6803: sites of primary charge separation and cation and triplet stabilization, *Biochemistry* 40, 9265-9281.
- Okubo, T., Tomo, T., Sugiura, M., and Noguchi, T. (2007) Perturbation of the structure of P680 and the charge distribution on its radical cation in isolated reaction center complexes of photosystem II as revealed by fourier transform infrared spectroscopy, *Biochemistry* 46, 4390-4397.
- Sugiura, M., Rappaport, F., Brettel, K., Noguchi, T., Rutherford, A. W., and Boussac, A. (2004) Site-directed mutagenesis of *Thermosynechococcus elongatus* photosystem II: the O₂-evolving enzyme lacking the redox-active tyrosine D, *Biochemistry* 43, 13549-13563.
- Davis, I. H., Heathcote, P., MacLachlan, D. J., and Evance, M. C. W. (1993) Modulation analysis of the electron spin echo signals of *in vivo* oxidised primary donor ¹⁴N chlorophyll centres in bacterial, P870 and P960, and plant Photosystem I, P700, reaction centres, *Biochim. Biophys. Acta* 1143, 183-189.
- Kass, H., Fromme, P., Witt, H. T., and Lubitz, W. (2001) Orientation and electronic structure of the primary donor radical cation P₇₀₀⁺ in Photosystem I: a single crystals EPR and ENDOR study, *J. Phys. Chem B* 105, 1225-1239.
- Breton, J., Navedryk, E., and Leibl, W. (1999) FTIR study of the primary electron donor of Photosystem I (P700) revealing delocalization of the charge in P700⁺ and localization of the triplet character in ³P700, *Biochemistry* 38, 11585-11592.
- Saito, K., Ishida, T., Sugiura, M., Kawakami, K., Umena, Y., Kamiya, N., Shen, J.-R., and Ishikita, H. (2011) Distribution of the cationic state over the chlorophyll pair of photosystem II reaction center, *J. Am. Chem. Soc.* 133, 14379-14388.
- Noguchi, T., Tomo, T., and Inoue, Y. (1998) Fourier transform infrared study of the cation radical of P680 in the photosystem II reaction center: evidence for charge delocalization on the chlorophyll dimer, *Biochemistry* 37, 13614-13625.
- Manna, P., LoBrutto, R., Eijkelhoff, C., Dekker, J. P., and Vermaas, W. (1998) Role of Arg180 of the D2 protein in photosystem II structure and function, *Eur. J. Biochem.* 251, 142-154.
- Ermakova-Gerdes, S., Yu, Z., and Vermaas, W. (2001) Targeted random mutagenesis to identify functionally important residues in the D2 protein of photosystem II in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803, *J. Bacteriol.* 183, 145-154.
- Ishikita, H., and Knapp, E. W. (2006) Function of redox-active tyrosine in photosystem II, *Biophys. J.* 90, 3886-3896.
- Iwata, S., and Barber, J. (2004) Structure of photosystem II and molecular architecture of the oxygen-evolving centre, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 14, 447-453.
- Ishikita, H., Saenger, W., Loll, B., Biesiadka, J., and Knapp, E.-W. (2006) Energetics of a possible proton exit pathway for water oxidation in Photosystem II, *Biochemistry* 45, 2063-2071.
- Jordan, P., Fromme, P., Witt, H. T., Klukas, O., Saenger, W., and Krauss, N. (2001) Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution, *Nature* 411, 909-917.
- Saito, K., and Ishikita, H. (2011) Cationic state distribution over the P700 chlorophyll pair in Photosystem I, *Biophys. J.* 101, 2018-2025.

Cationic State Distribution Over The P680 Chlorophyll Pair in Photosystem II

Hiroshi Ishikita^{1,2,*}, Keisuke Saito¹

¹Career-Path Promotion Unit for Young Life Scientists, Kyoto University

²JST, PRESTO