

蛋白質における電子・プロトン・エネルギー移動反応の

分子機構の理論解析

Theoretical investigation of molecular mechanisms of electron, proton and energy transfer reactions in proteins

齊藤圭亮

東京大学 先端科学技術研究センター

1. 研究目的

蛋白質におけるプロトン(H^+)/電子/エネルギー移動反応はあらゆる生体反応において重要な役割を演じているが、その分子機構は不明であることが多い。本研究の目的は、計算機科学と生命分野との共同研究により蛋白質構造を用いた理論計算を行い、 H^+ /電子/エネルギー移動の機構を調べる手段を確立し、それを種々の蛋白質（光受容・物質輸送蛋白質等）に応用し生体内の反応機構の解明に役立てることである。

2. 研究成果の内容

2.1 光合成光化学系 II に関する研究

光化学系 II は植物などの光合成で水分解・酸素発生反応を触媒する蛋白質である。触媒部位には Mn_4CaO_5 錯体がある。これに関する以下の成果を得た。

【成果 1】 Mn_4CaO_5 錯体を模した人工錯体において、Ca など酸化還元活性のない金属の役割を明らかにした[13].

【成果 2】 Mn_4CaO_5 錯体の近傍に存在する塩素イオンの役割は Mn_4CaO_5 錯体からの電子移動を促進することであることを明らかにした[5].

【成果 3】 Mn_4CaO_5 錯体からの電子移動とプロトン移動に関するこれまでの知見をまとめた[3].

【成果 4】 非ヘム鉄を経由したキノンからキノンへの電子移動機構を明らかにした[6].

2.2 光合成光化学系 I に関する研究

植物や藻類の光合成で CO_2 を還元するための還元力を固定する役割を持つ光化学系 I では光エネルギーによりクロロフィルから鉄硫黄錯体へと電子移動が起こる。これに関する以下の成果を得た。

【成果 5】 鉄硫黄錯体間の電子移動機構を明らかにした[11].

【成果 6】 鉄硫黄錯体の電子状態が混合電子化になっている機構を周辺蛋白質環境の観点から明らかにした[2].

2.3 紅色光合成細菌の反応中心に関する研究

【成果 7】クロロフィル上で起こる光誘起電荷分離反応のダイナミクスを紅色光合成細菌の反応中心と光化学系 II 反応中心の比較において明らかにした[14].

【成果 8】反応中心における電子の終着点であるキノンへの電子共役プロトン移動の機構とプロトン移動経路を明らかにした[12].

2.4 ロドプシンに関する研究

ロドプシンはレチナールの光異性化により、プロトンポンプ、イオンチャネル、光センサーなど様々な機能を発現する蛋白質群である。これに関する以下の成果を得た。

【成果 9】 π 共役系を長くしたレチナールアナログを導入した蛋白質の吸収波長が短波長化する機構を明らかにした[8].

【成果 10】プロトン移動を利用して細胞膜内外でのアニオン輸送が制御される機構を明らかにした[7](プレスリリース1).

【成果 11】色素が形成する低障壁水素結合で起こるプロトン移動により、色素の吸収波長が変化する機構を明らかにした[1].

2.5 その他の蛋白質に関する研究

【成果 12】脂質二重膜を構成するリン脂質を膜の反対側に輸送するフリッパーゼ蛋白質(ATP11C)が脂質特異性を有する機構を明らかにした[10].

【成果 13】イネに存在するケイ酸輸送蛋白質における輸送機構を明らかにした[9] (プレスリリース2).

【成果 14】ペプチドを加水分解する含亜鉛酵素であるアミノペプチダーゼ N において、活性が基質に依存する原因を分子科学的観点から明らかにした[4].

3. 学際共同利用が果たした役割と意義

上記の成果は分子動力学シミュレーション (MD) と量子化学計算を主軸にするものである。これらの計算では、条件をいろいろと変えながら、大規模な計算を複数回行う必要がある。潤沢に割り当てていただいた計算資源を効率的に使うことにより、これが可能となった。もしも学際共同利用がなければ、短期間でこれらの研究成果を上げることは困難であった。以上の理由により学際共同利用が果たした役割と意義は非常に大きい。

4. 今後の展望

これまで、プロトン移動や電子移動に加えて、光吸収過程や光誘起電荷分離過程など、光に関わる化学反応についても、理論解析する手法を確立し、種々の蛋白質に対して成果を挙げた。今後は単体の蛋白質だけでなく、近年構造が明らかになってきている蛋白質超複合体についても解析の対象を広げていきたい。

5. 成果発表

(1) 学術論文

- [1] M. Tsujimura, H. Tamura, K. Saito, H. Ishikita, “Absorption wavelength along chromophore low-barrier hydrogen bonds” *iScience* 25 (2022) 104247. doi: 10.1016/j.isci.2022.104247
- [2] T. Kanda, K. Saito, H. Ishikita, “Mechanism of mixed-valence Fe^{2.5+}...Fe^{2.5+} formation in Fe₄S₄ clusters in the ferredoxin binding motif” *J. Phys. Chem. B* 126 (2022) 3059-3066. doi: 10.1021/acs.jpcc.2c01320
- [3] M. Mandal, K. Saito, H. Ishikita, “Release of electrons and protons from substrate water molecules at the oxygen-evolving complex in photosystem II” *J. Phys. Soc. Jpn.* 91 (2022) 091012. doi: 10.7566/JPSJ.91.091012
- [4] Y. Saito, H. Yatabe, I. Tamura, Y. Kondo, R. Ishida, T. Seki, K. Hiraga, A. Eguchi, Y. Takakusagi, K. Saito, H. Ishikita, K. Yamamoto, M. C. Krishna, S. Sando “Structure-guided design enables development of a hyperpolarized molecular probe for the detection of aminopeptidase N activity in vivo” *Sci. Adv.* 8 (2022) eabj2667. doi: 10.1126/sciadv.abj2667
- [5] M. Mandal, K. Saito, H. Ishikita, “Requirement of chloride for downhill electron transfer pathway from the water-splitting center in natural photosynthesis” *J. Phys. Chem. B* 126 (2022), 1, 123–131. doi: 10.1021/acs.jpcc.1c09176
- [6] H. Tamura, K. Saito, H. Ishikita, “Long-range electron tunneling from the primary to secondary quinones in photosystem II enhanced by hydrogen bonds with non-heme Fe complex” *J. Phys. Chem. B* 125 (2021) 13460–13466. doi: 10.1021/acs.jpcc.1c09538
- [7] M. Tsujimura¹, K. Kojima¹, S. Kawanishi, Y. Sudo, H. Ishikita, “Proton transfer pathway in anion channelrhodopsin-1” *eLife* 10 (2021) e72264. doi: 10.7554/eLife.72264, ¹These authors contributed equally to this work.
- [8] T. Tsuneishi¹, M. Takahashi¹, M. Tsujimura¹, K. Kojima, H. Ishikita, Y. Takeuchi, Y. Sudo, “Exploring the retinal binding cavity of archaerhodopsin-3 by replacing the retinal chromophore with a dimethyl phenylated derivative” *Front. Mol. Biosci.* 8 (2021) doi: 10.3389/fmolb.2021.794948, ¹These authors contributed equally to this work.
- [9] Y. Saitoh¹, N Mitani-Ueno¹, K. Saito¹, K. Matsuki, S. Huang, L. Yang, N. Yamaji, H. Ishikita, J.-R. Shen, J. F. Ma, M. Suga, “Structural basis for high selectivity of a rice silicon channel Lsi1” *Nat. Commun.* 12 (2021) 6236. doi: 10.1038/s41467-021-26535-x ¹These authors contributed equally to this work.
- [10] K. Segawa¹, A. Kikuchi¹, T. Noji, Y. Sugiura, K. Hiraga, C. Suzuki, K. Haginoya, Y. Kobayashi, M. Matsunaga, Y. Ochiai, K. Yamada, T. Nishimura, S. Iwasawa, W. Shoji, F. Sugihara, K. Nishino, H. Kosako, M. Ikawa, Y. Uchiyama, M. Suematsu, H. Ishikita, S. Kure, S. Nagata, “A sublethal mutation in ATP11A that causes aberrant phosphatidylcholine flipping in plasma membranes” *J. Clin. Invest.* 131 (2021) e148005. doi: 10.1172/JCI148005, ¹These authors contributed equally to this work.
- [11] T Kanda¹, K Saito¹, H. Ishikita, “Electron acceptor-donor Fe sites in the iron-sulfur cluster of photosynthetic electron-transfer pathways” *J. Phys. Chem. Lett.* 12 (2021) 7431-7438. doi: 10.1021/acs.jpcclett.1c01896, ¹These authors contributed equally to this work.
- [12] Y. Sugo, K. Saito, H. Ishikita, “Mechanism of the formation of proton transfer pathways in photosynthetic reaction” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 118 (2021) e2103203118. doi: 10.1073/pnas.2103203118
- [13] K. Saito, M. Nakagawa, M. Mandal, H. Ishikita, “Role of redox-inactive metals in controlling the redox potential of heterometallic manganese-oxido clusters” *Photosynth. Res.* 148 (2021) 153-159. doi: 10.1007/s11120-021-00846-y
- [14] H. Tamura, K. Saito, H. Ishikita, “The origin of unidirectional charge separation in photosynthetic reaction centers: nonadiabatic quantum dynamics of exciton and charge in the pigment-protein complexes” *Chem. Sci.* 12 (2021) 8131-8140. doi:

10.1039/D1SC01497H

(2) 学会発表

1. 辻村真樹、斉藤圭亮、石北央「低障壁水素結合における吸収波長のプロトン位置依存性」第 11 回日本光合成学会年会, 2021/5/28, 口頭
2. 菅生優、斉藤圭亮、石北央「光合成反応中心におけるプロトン移動経路同定と機能解明」第 11 回日本光合成学会年会, 2021/5/28, 口頭
3. 辻村真樹、野地智康、斉藤圭亮、小島慧一、須藤雄気、石北央「微生物型ロドプシンにおける吸収波長と分子機能の考察」第 47 回生体分子科学討論会, 2021/6/4, 口頭, **優秀ポスター賞受賞**
4. 菅生優、斉藤圭亮、石北央「光合成反応中心におけるプロトン移動経路同定と機能解明」第 47 回生体分子科学討論会, 2021/6/4, ポスター
5. 野地智康、石北央「バクテリオロドプシンにおける中間体の吸収波長変化の機構」第 28 回光合成セミナー, 2021/6/26, 口頭
6. 辻村真樹、石北央「微生物型ロドプシンにおける吸収波長と分子機能の考察」第 28 回光合成セミナー, 2021/6/26, 口頭
7. 菅生優、斉藤圭亮、石北央「光合成反応中心におけるプロトン移動経路同定と機能解明」第 28 回光合成セミナー, 2021/6/26, 口頭
8. 神田知樹、斉藤圭亮、石北央「光化学系 I における鉄硫黄錯体を介した特異な電子移動機構」第 28 回光合成セミナー, 2021/6/26, 口頭
9. 田村宏之「シングレット・フィッシュンと TTA の協奏による有機結晶中の励起子の長距離拡散」光化学討論会 2021, 2021/9/14, 口頭
10. Masaki Tsujimura, 「Regulation of absorption wavelength and proton transfer in microbial rhodopsins」Stockholm-Tokyo University Partnership Online Workshop, 2021/9/27, 招待講演
11. Masaki Tsujimura 「Protonation state of the key residue Asp234 in light-gated anion channelrhodopsin *GtACR1*」13th symposium on Discovery, Fusion, Creation of New Knowledge by Multidisciplinary Computational Sciences” 2021/10/8, 口頭
12. 辻村真樹、野地智康、斉藤圭亮、小島慧一、須藤雄気、石北央「アニオンチャンネルロドプシンにおけるプロトンを介したアニオン透過機構の解明」第 11 回 CSJ 化学フェスタ 2021, 2021/10/20, ポスター, **優秀ポスター発表賞受賞**
13. 菅生優、斉藤圭亮、石北央「光合成反応中心におけるプロトン移動経路同定と機能解明」第 11 回 CSJ 化学フェスタ 2021, 2021/10/19, ポスター, **優秀ポスター発表賞受賞**
14. 平賀 啓太・瀬川 勝盛・野地 智康・石北 央・長田 重一「フリッパーゼの変異による活性への影響」第 11 回 CSJ 化学フェスタ 2021, 2021/10/20, ポスター
15. 辻村真樹、小島慧一、川西志歩、須藤雄気、石北央「アニオンチャンネルロドプシンのプロトンを介したアニオン透過機構の解明」第 59 回日本生物物理学会年会, 2021/11/25, 口頭, **学生発表賞受賞**

16. 神田知樹、斉藤圭亮、石北央「Electron Acceptor–Donor Iron Sites in the Iron–Sulfur Cluster of Photosynthetic Electron-Transfer Pathways」第 59 回日本生物物理学会年会, 2021/11/25, 口頭
17. 菅生優、斉藤圭亮、石北央「Mechanism of the formation of proton transfer pathways in photosynthetic reaction centers」第 59 回日本生物物理学会年会, 2021/11/25, 口頭
18. 辻村真樹「アニオンチャネルロドプシンの吸収波長とアニオン透過の制御機構の解明」CREST「光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用」研究領域 第 6 回領域会議, 2021/12/23, 口頭
19. 辻村真樹、恒石泰地、小島慧一、須藤雄気、石北央「微生物型ロドプシンのレチナールアナログを用いた吸収波長制御」第 11 回日本生物物理学会関東支部会, 2022/3/2, 口頭

(3) その他

プレスリリース 1:

「神経抑制に役立つタンパク質の巧みな光応答メカニズムを解明」

2021 年 12 月 21 日 東京大学 岡山大学

<https://www.rcast.u-tokyo.ac.jp/ja/news/release/20211221.html>

プレスリリース 2:

「イネの安定多収に欠かせないケイ酸チャネルの構造基盤を解明」

2021 年 10 月 29 日 岡山大学 東京大学

<https://www.rcast.u-tokyo.ac.jp/ja/news/release/20211029.html>

使用計算機	使用計算機 に○	配分リソース*	
		当初配分	追加配分
Cygnus	○	255,000	
Oakforest-PACS	○	10,800	
※配分リソースについてはノード時間積をご記入ください。			