

## 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

斉藤圭亮

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】光化学系 II 二量体の結晶構造で観測されていた  $Mn_4CaO_5$  錯体のモノマー毎の構造の違いの原因を特定した[2].

【成果 2】 $Mn_4CaO_5$  錯体の Ca 原子の置換がプロトン移動と電子移動に及ぼす影響を明らかにした[3].

【成果 3】光化学系 II では捕集した光エネルギーをコアアンテナから反応中心へ移して反応に利用している。そのエネルギー移動経路を特定した[5].

【成果 4】電子を仲介する機能をもつ特別なチロシン残基(TyrZ)から  $Mn_4CaO_5$  錯体への量子的電子移動経路を特定した[6].

【成果 5】電子スピン共鳴により観測されている  $Mn_4CaO_5$  錯体の中間状態のスピン構造を計算し、錯体配位水のプロトン化状態を特定した[12].

【成果 6】光化学系 II では、非ヘム鉄付近で起こるプロトン移動が光保護作用に関係していることを明らかにした[13].

【成果 7】植物の光化学系 II に特異的にみられる表在性蛋白質の変異体では、変異アミノ酸周辺の水素結合ネットワークが変化するために酸素発生反応に影響を与えるこ

とを明らかにした[15](プレスリリース).

【成果 8】電子輸送体キノンの放出に伴うプロトン移動の機構とその経路を解明した [16].

【成果 9】非アクティブな電子移動経路上に存在する酸化還元活性をもつチロシン残基(TyrD)の酸化還元に伴い、低障壁水素結合が形成されることを明らかにした[18].

## 2.2 その他の光合成光化学系に関する研究

光化学系 II の反応中心は紅色光合成細菌の反応中心と共通の祖先をもち、これらは Type II 型反応中心と総称される. 一方、植物の光合成で CO<sub>2</sub> 固定に使われる還元力を光エネルギーより生み出す光化学系 I は緑色硫黄細菌やヘリオ細菌の反応中心と共通の祖先を持ち、Type I 型と総称される. これらの反応中心に関する以下の成果を得た.

【成果 10】紅色光合成細菌で起こっているキノンへプロトン移動はアスパラギン残基によって仲介されていることを明らかにした [1].

【成果 11】3 種の Type I 型の光合成反応中心の電子移動エナジェティクスを計算し、種ごとの特徴を解析した [11].

【成果 12】Type II 型の光合成反応中心のキノン A からキノン B までの電子移動エナジェティクスとキネティクスを量子論的に計算し、種ごとの特徴を比較した [9].

【成果 13】ホモダイマー状の Type I 型光合成反応中心における電子移動経路を同定した[11].

## 2.3 その他の研究

【成果 14】がんの創薬ターゲット蛋白質 HIF-1 へのシグナルを仲介する蛋白質 ZBTB2 を同定し、構造と機能の関係を明らかにした[7].

【成果 15】ヘリオロドプシンではプロトン移動に誘起されて構造変化が起こることを明らかにし、その分子機構を解析した[8].

【成果 16】バクテリオロドプシンの反応サイクル中に観測されている吸収波長シフトの機構を解明した[10].

【成果 17】ケージ錯体に内包されたアミド分子においては、ケージ内包によりアミド結合がねじれ、アルカリ加水分解における OH-付加反応の活性化障壁が下がることを明らかにした[14].

【成果 18】カルボン酸の C=O 伸縮振動数と pK<sub>a</sub> の関係を明らかにし、ロドプシンのアスパラギン酸に応用した[17].

## 3. 学際共同利用プログラム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、光合成蛋白質をはじめとする光受容蛋白質におけるプロトン移動、電子移動、光吸収過程などの化学反応について解析を行っただけでなく、創薬ターゲット蛋白質の機能についても理論解析する手法を確立し、成果を挙げた。今後は、クライオ電子顕微鏡により得られた構造を用いることで、さらに分子量の大きい蛋白質超複合体の機能を構造ダイナミクスも含めて解析する手法を確立していきたい。

#### 5. 成果発表

##### (1) 学術論文

- [1] Y. Sugo, H. Ishikita, “Mechanism of asparagine-mediated proton transfer in photosynthetic reaction centers” *Biochemistry* (2023) doi: 10.1021/acs.biochem.3c00013
- [2] K. Saito, Shu Nakao, H. Ishikita, “Identification of the protonation and oxidation states of the oxygen-evolving complex in the low-dose X-ray crystal structure of photosystem II” *Front. Plant Sci.* (2023) doi: 10.3389/fpls.2023.1029674
- [3] M. Mandal, K. Saito, H. Ishikita, “Substitution of  $\text{Ca}^{2+}$  and changes in the H-bond network near the oxygen-evolving complex of photosystem II” *Phys. Chem. Chem. Phys.* 25 (2023) 6473-6480. doi: 10.1039/D2CP05036F
- [4] T. Kanda and H. Ishikita, “Energetic diversity in the electron transfer pathways of type I photosynthetic reaction centers”, *Biochemistry* 62 (2023) 934-941. doi: 10.1021/acs.biochem.2c00689
- [5] K. Saito, K. Mitsunashi, H. Tamura, H. Ishikita, “Quantum mechanical analysis of excitation energy transfer couplings in photosystem II”, *J. Phys. Chem. B* 127 (2023) 505-513. doi: 10.1021/acs.jpcc.2c07232
- [6] H. Tamura, K. Saito, S. Nishio, H. Ishikita, “Electron-transfer route in the early oxidation states of the  $\text{Mn}_4\text{CaO}_5$  cluster in photosystem II”, *J. Phys. Chem. B* 127 (2023) 205-211. doi: 10.1021/acs.jpcc.2c08246
- [7] S. Koyasu, S. Horita, K. Saito, M. Kobayashi, H. Ishikita, C. C.T. Chow, G. Kambe, S. Nishikawa, T. Menju, A. Morinibu, Y. Okochi, Y. Tabuchi, Y. Onodera, N. Takeda, H. Date, Gregg L. Semenza, E. M. Hammond, H. Harada, “ZBTB2 links p53-deficiency to HIF-1-mediated hypoxia signaling for cancer aggressiveness”, *EMBO rep.* 24 (2023) e54042. doi: 10.15252/embr.202154042
- [8] M. Tsujimura, Y. Chiba, K. Saito, H. Ishikita, “Proton transfer and conformational changes along the hydrogen bond network in heliorhodopsin”, *Commun. Biol.* 5 (2022) 1336. doi: 10.1038/s42003-022-04311-x
- [9] Y. Sugo, H. Tamura, H. Ishikita, “Electron transfer route between quinones in type-II reaction centers”, *J. Phys. Chem. B* 126 (2022) *J. Phys. Chem. B* 126 (2022) 9549-9558. doi: 10.1021/acs.jpcc.2c05713
- [10] T. Noji, H. Ishikita, “Mechanism of absorption wavelength shift of bacteriorhodopsin during photocycle”, *J. Phys. Chem. B* 126 (2022) 9945-9955. doi: 10.1021/acs.jpcc.2c04359
- [11] T. Kanda, H. Ishikita, “Energetics of the electron transfer pathways in the homodimeric photosynthetic reaction center”, *Biochemistry* 61 (2022) 2621-2627. doi: 10.1021/acs.biochem.2c00524

- [12] K. Saito, H. Mino, S. Nishio, H. Ishikita, “Protonation structure of the closed-cubane conformation of the O<sub>2</sub>-evolving complex in photosystem II”, *PNAS Nexus* 1 (2022) pgac221. doi: 10.1093/pnasnexus/pgac221
- [13] Y. Sugo, H. Ishikita, “Proton-mediated photoprotection mechanism in photosystem II”, *Front. Plant Sci.* 13 (2022) 934736. doi: 10.3389/fpls.2022.934736
- [14] H. Tamura, H. Takezawa, M. Fujita, H. Ishikita, “Self-assembled coordination cage enhances reactivity of confined amides via mechanical bond-twisting”, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 24 (2022) 21367-21371. doi: 10.1039/D2CP03126D
- [15] K. Imaizumi, T. Nishimura, R. Nagao, K. Saito, T. Nakano, H. Ishikita, T. Noguchi, K. Ifuku, “D139N mutation of PsbP enhances the oxygen-evolving activity of photosystem II through stabilized binding of a chloride ion”, *PNAS Nexus* 1 (2022) pgac136. doi: 10.1093/pnasnexus/pgac136
- [16] Y. Sugo, K. Saito, H. Ishikita, “Conformational changes and H-bond rearrangements during quinone release in photosystem II”, *Biochemistry* 61 (2022) 1836-1843. doi: 10.1021/acs.biochem.2c00324
- [17] K. Saito, T. Xu, H. Ishikita, “Correlation between C=O stretching vibrational frequency and pK<sub>a</sub> shift of carboxylic acids”, *J. Phys. Chem. B* 126 (2022) 4999-5006. doi: 10.1021/acs.jpcc.2c02193
- [18] M. Mandal, K. Saito, H. Ishikita, “Release of the proton and formation of the low-barrier hydrogen bond between tyrosine D and D2-His189 in photosystem II”, *ACS Phys. Chem Au* 2 (2022) 423-429. doi: 10.1021/acspchemau.2c00019

## (2) 学会発表

1. 辻村真樹、斉藤圭亮、石北央「O-D および C=O 伸縮振動数を用いたタンパク質内 pK<sub>a</sub> の予測」第 12 回日本生物物理学会関東支部会（2023 年 3 月 6 日～7 日）、3 月 6 日、国内、口頭、東京農工大学 工学部キャンパス
2. 西川 凱、菅生 優、斉藤 圭亮、石北 央，“Energetics of time-dependent structural changes in the photosynthetic electron transfer pathway”，第 2 回システム生物医学研究会（2022 年 12 月 16 日）、12 月 16 日、国内、ポスター、東京大学
3. 高見 亮成、斉藤 圭亮、石北 央，“Energetics of proton transfers in the communication channel between two active sites of pyruvate oxidase”，第 2 回システム生物医学研究会（2022 年 12 月 16 日）、12 月 16 日、国内、ポスター、東京大学
4. 齊藤 昌弘、斉藤 圭亮、石北 央，“Why is the oxygen-evolving complex in photosystem II composed of manganese instead of iron?”，第 2 回システム生物医学研究会（2022 年 12 月 16 日）、12 月 16 日、国内、ポスター、東京大学
5. 鍵本 拓海、斉藤 圭亮、石北 央，“Energy transfer pathways in light harvesting complex II”，第 2 回システム生物医学研究会（2022 年 12 月 16 日）、12 月 16 日、国内、ポスター、東京大学
6. 陳 楊、斉藤 圭亮、石北 央，“Effect of chlorine substitution by iodine in oxygen-evolving photosystem II”，第 2 回システム生物医学研究会（2022 年 12 月 16 日）、12 月 16 日、国内、ポスター、東京大学
7. 沖 樹、石北 央，“Extracellular electron transfer pathways in the multi-heme MtrABC complex”，第 2 回システム生物医学研究会（2022 年 12 月 16 日）、12 月 16 日、国内、ポスター、東京大学

8. 西尾 俊哉、斉藤 圭亮、三野 広幸、石北 央, “Origin of electron paramagnetic resonance signals from the water-splitting complex in photosystem II”, 第2回システム生物医学研究会 (2022年12月16日)、12月16日、国内、ポスター、東京大学
9. 神田 知樹、石北 央, “Electron transfer pathways in photosynthetic type-I reaction centers”, 第2回システム生物医学研究会 (2022年12月16日)、12月16日、国内、ポスター、東京大学
10. 石北 央, 「光・電子・プロトンとタンパク質分子」, 第26回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー (2022年12月13日)、12月13日、国内、招待講演、オンライン
11. 西尾 俊哉、斉藤 圭亮、三野 広幸、石北 央, 「水分解反応触媒における電子スピン共鳴 シグナルの起源」, 第36回分子シミュレーション大会 (2022年12月5日~7日)、12月5日、国内、ポスター、オンライン (東京工業大学 大岡山西9号館デジタル多目的ホール)
12. 石北 央, 「タンパク質分子構造と機能をつなぐ光・電子・プロトン」, 第19回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム (2022年11月21日~22日)、11月21日、国内、招待講演、じゅうろくプラザ (岐阜市文化産業交流センター)
13. Keisuke Saito, “Molecular mechanisms of light-harvesting and electron-transfer reactions in photosystem II”, International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Regulation (Nov. 15-18,2022), Nov. 16, international, invited, Kobe Fashion Mart
14. Masaki Tsujimura, Hiroshi Ishikita, “Light absorption, proton transfer, and ion transport in the light-driven sodium-pumping rhodopsin KR2”, 19th International Conference on Retinal Proteins (Oct. 30-Nov. 4,2022), Oct. 30, International, poster, Royton Sapporo
15. 西尾 俊哉、斉藤 圭亮、三野 広幸、石北 央, “Origin of electron paramagnetic resonance signals from the water-splitting complex in photosystem II”, 第14回筑波大学計算科学研究センター創立30周年記念シンポジウム (2022年10月13日~14日)、10月14日、国際、ポスター、つくば国際会議場
16. Hiroyuki Yatabe, Yutaro Saito, Iori Tamura, Yohei Kondo, Ryo Ishida, Tomohiro Seki, Keita Hiraga, Akihiro Eguchi, Yoichi Takakusagi, Keisuke Saito, Nobu Oshima, Hiroshi Ishikita, Kazutoshi Yamamoto, Murali C. Krishna, Shinsuke Sando, “A newly designed hyperpolarized molecular probe enables the in vivo detection of aminopeptidase N activity from the tumor regions in animals”, WMIC2022 (Sep. 28-Oct. 1,2022), international, oral, online
17. 辻村 真樹、石北 央, 「微生物型ロドプシンの吸収波長とプロトン移動の制御機構」, 第60回日本生物物理学会年会 (2022年9月28日~30日)、9月28日、国際、ポスター、函館アリーナ・函館市民会館
18. 田村 宏之、斉藤 圭亮、石北 央, 「光合成反応中心における一方向の励起子電荷分離経路の分子論的起源」, 第16回分子科学討論会 (2022年9月19日~22日)、9月19日、国際、口頭、慶應義塾大学矢上キャンパス
19. 田村 宏之、斉藤 圭亮、石北 央, 「光合成反応中心における一方向の励起子電荷分離 経路の起源」, 2022年光化学討論会 (2022年9月13日~15日)、9月14日、国内、口頭、京都大学桂キャンパス

20. 齋藤 雄太朗、谷田部 浩行、田村 伊織、近藤 洋平、石田 諒、関智 宏、平賀 啓太、江口 晃弘、高草木 洋一、斉藤 圭亮、大嶋野 歩、石北 央、山本和俊、Murali C. Krishna、山東 信介、「酵素反応速度論に立脚したアミノペプチダーゼ活性検出超偏極 MRI 分子プローブの開発」、第 16 回バイオ関連化学シンポジウム (2022 年 9 月 10 日~12 日)、国内、名古屋大学東山キャンパス
21. 辻村 真樹、「光受容タンパク質におけるプロトン移動と吸収波長」、若手生物物理若手の会「夏の学校 2022 (2022 年 8 月 30 日~9 月 2 日)、8 月 30 日、国内、ポスター、長良川温泉ホテルパーク
22. Hiroshi Ishikita, “Release of protons in response to the Mn<sub>4</sub>CaO<sub>5</sub> oxidation in photosystem II”, Mechanisms of Water Oxidation, Satellite Meeting to 18th International Congress on Photosynthesis Research 2022 (Aug. 6-7, 2022) Aug. 7, international, invited, Dunedin, New Zealand, online
23. Hiroshi Ishikita, “Quinone-mediated electron transfer in type II reaction centers”, 18th International Congress on Photosynthesis Research 2022 (Jul. 31-Aug. 5, 2022) Aug. 1, international, invited, Dunedin, New Zealand, online
24. 石北 央、「タンパク質中におけるプロトン移動と電子移動」、物性研短期研究会「理論タンパク質物性科学の最前線：理論と実験との密な協働」(2022 年 7 月 26 日~27 日)、7 月 26 日、国内、招待講演、東京大学 物性研究所
25. 辻村 真樹、田村 宏之、斉藤 圭亮、石北 央、「光受容タンパク質の色素が形成する低障壁水素結合における吸収波長」、第 48 回生体分子科学討論会 (2022 年 6 月 30 日~7 月 1 日)、6 月 30 日、国内、口頭、鳥取とりぎん文化会館
26. 千葉 義大、辻村 真樹、石北 央、「ヘリオロドプシンの水素結合ネットワークと光反応におけるプロトン移動経路の解析」、第 22 回 日本蛋白質科学会年会 (2022 年 6 月 7 日~9 日)、6 月 7 日、国内、口頭、つくば国際会議場
27. 辻村 真樹、小島 慧一、須藤 雄気、石北 央、「微生物型ロドプシンにおける光駆動イオン輸送機構の解明」、第 22 回 日本蛋白質科学会年会 (2022 年 6 月 7 日~9 日)、6 月 7 日、国内、口頭、つくば国際会議場
28. Tomoyasu Noji, Hiroshi Ishikita, 「Shifting mechanism of absorption energy in intermediate states of bacteriorhodopsin」, The 22nd Annual Meeting of the Protein Society of Japan (Jun. 7-9,2022) Jun. 9, Epochal Tsukuba International Congress Center

(3) その他

プレスリリース:

「植物の光合成初期過程の酸素発生活性を向上させるアミノ酸変異を発見—光合成・人工光合成の光エネルギー変換効率の向上へ期待—」2022 年 8 月 18 日 京都大学

<https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2022-08-18>

筑波大学計算科学研究センター 2022年度学際共同プログラム利用報告書

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	○	7,560	
Wisteria/BDEC-01	○	212,500	
※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。			