

## 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】水分解・酸素発生反応になぜ  $Mn$  を含む  $Mn_4CaO_5$  錯体が利用されているのかを明らかにするため、 $Fe_4CaO_5$  錯体に置換した光化学系 II の解析を行った、 $Fe$  錯体では  $Mn$  錯体とは異なり、錯体の構造変化とプロトン移動を起こし得ないことを明らかにした [10].

【成果 2】水分解・酸素発生反応サイクルの 2 段階目の反応中間体( $S_2$  open 状態)に対応する  $Mn_4CaO_5$  錯体のプロトン化状態を、パルス二重共鳴(PELDOR)法の観測スペクトルをシミュレーションすることにより明らかにした [9].

【成果 3】植物は光によって傷つけられた光化学系 II を認識して修復させる機能を持つが、特定のアミノ酸が酸化されることがその修復の目印になっていることを明らかにした [5] (プレスリリース).

【成果 4】水分解・酸素発生反応サイクルにおいて、その 2 段階目( $S_2$ )から 3 段階目( $S_3$ )へ遷移する際の詳細な分子機構を明らかにした[4].

【成果 5】水分解・酸素発生反応サイクルにおいて、その 3 段階目( $S_3$ )から 4 段階目( $S_4$ )へ遷移する際に同時に起こるとされている水分子取り込みの分子機構を解析した [2].

##### 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 6】藻類・植物と緑色硫黄細菌の持つ異なる Type I 型の光合成反応中心の鉄硫黄錯体の酸化還元電位を比較し、両者で電子移動機構が異なることを明らかにした [12].

【成果 7】時間分解自由電子レーザーによる研究において報告された紅色光合成細菌の反応中心の構造は、実際の電子移動反応に伴う構造変化を反映していないことを、電子移動のエナジेटィクスを計算することにより明らかにした [8].

【成果 8】紅色光合成細菌の反応中心に除草剤が結合した際の電子移動反応への影響を明らかにした [3].

### 2.3 その他の研究

【成果 9】ヘリオロドプシンの中心部に含まれる水分子のクラスターを解析し、そこに酢酸塩が出入りする機構を明らかにした [11].

【成果 10】カルボン酸を含む水素結合において、O-D 伸縮振動と C=O 伸縮振動の振動数は、水素結合ドナーとアクセプターの pK<sub>a</sub> 差を反映していることを明らかにした [7].

【成果 11】フラビンを発色団として持つ PixD 光受容蛋白質において、光誘起プロトン共役電子移動反応の機構を明らかにした [6].

【成果 12】他のロドプシンと比べて特別なリシン残基を持つ *Exiguobacterium sibiricum* rhodopsin のプロトン移動反応を調べた [1].

## 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理論解析する手法を確立し解析を行った。今後は、この研究を発展させ、蛋白質超複合体 (複数の蛋白質から成る大きな複合体) を対象と

した解析を推進する予定である。それにより「光合成蛋白質がいかにして効率よく光エネルギーを集めて反応に利用しているか」という観点から、生体内の化学反応システムとしての一連の光合成反応の機構がより詳細に解明されることが期待される。

## 5. 成果発表

### (1) 学術論文

- [1] T. Noji, Y. Chiba, K. Saito, H. Ishikita “Energetics of the H-bond network in *Exiguobacterium sibiricum* rhodopsin” *Biochemistry* (2024) doi: 10.1021/acs.biochem.4c00182
- [2] K. Saito, Y. Chen, H. Ishikita “Exploring the deprotonation process during incorporation of a ligand water molecule at the dangling Mn site in photosystem II”, *J. Phys. Chem. B* (2024) doi: 10.1021/acs.jpcc.4c01997
- [3] G. Nishikawa, K. Saito, H. Ishikita “Modulation of electron transfer branches by atrazine and triazine herbicides in photosynthetic reaction centers”, *Biochemistry* 63 (2024) 1206. doi: 10.1021/acs.biochem.4c00010
- [4] K. Saito, S. Nishio, H. Ishikita “Interplay of two low-barrier hydrogen bonds in long-distance proton-coupled electron transfer for water oxidation”, *PNAS Nexus* 2 (2023) pgad423. doi: 10.1093/pnasnexus/pgad423
- [5] Y. Kato, H. Kuroda, S. Ozawa, K. Saito, V. Dogra, M., G. Zhang, C. Vitry, H. Ishikita, C. Kim, M. Hippler, Y. Takahashi, W. Sakamoto “Characterization of tryptophan oxidation affecting D1 degradation by FtsH in the photosystem II quality control of chloroplasts”, *eLife* 12 (2023) RP88822. doi:10.7554/eLife.88822
- [6] T. Noji, H. Tamura, H. Ishikita, K. Saito “Difference in the charge-separation energetics between distinct conformers in the PixD photoreceptor”, *J. Phys. Chem. B* 127 (2023) 10351. doi: 10.1021/acs.jpcc.3c06483
- [7] M. Tsujimura, K. Saito, H. Ishikita “Stretching vibrational frequencies and pK<sub>a</sub> differences in H-bond networks of protein environments” *Biophys. J.* 122 (2023) 4336-4347. doi: 10.1016/j.bpj.2023.10.012
- [8] G. Nishikawa, Y. Sugo, K. Saito, H. Ishikita “Absence of electron transfer-associated changes in the time-dependent X-ray free-electron laser structures of the photosynthetic reaction center” *eLife* 12 (2023) e88955. doi: 10.7554/eLife.88955
- [9] K. Saito, S. Nishio, M. Asada, H. Mino, H. Ishikita “Insights into the protonation state and spin structure for the g=2 multiline EPR signal of the oxygen-evolving complex” *PNAS Nexus* 2 (2023) pgad244. doi: 10.1093/pnasnexus/pgad244
- [10] M. Saito, K. Saito, H. Ishikita “Structural and energetic insights into Mn-to-Fe substitution in the oxygen-evolving complex” *iScience* 26 (2023) 107352. doi: 10.1016/j.isci.2023.107352
- [11] Y. Chiba, M. Tsujimura, K. Saito, H. Ishikita “pH-dependent binding and releasing mechanism of acetate in the inner water cavity of heliorhodopsin” *Biochemistry* 62 (2023) 2363–2370, doi: 10.1021/acs.biochem.3c00193
- [12] T. Kanda H. Ishikita “Redox potentials of iron-sulfur clusters in type I photosynthetic reaction centers” *J. Phys. Chem. B* 127 (2023) 4998-5004. doi: 10.1021/acs.jpcc.3c01071

### (2) 学会発表

1. 城戸 功史朗、野地 智康、斉藤 圭亮、川上 恵典、石北 央「構造を基にしたフィコビリソーム内の励起エネルギー移動の解析」学術変革領域・光合成ユキビティ 第二回領域会議 (2024年2月19日～20日)、2月20日、国内、ポスター、福岡大学

2. 齊藤 圭亮、石北 央「超分子複合体の理論解析による光合成環境適応機構の解明」学術変革領域・光合成ユキビティ 第二回領域会議 (2024 年 2 月 19 日~20 日)、2 月 19 日、国内、口頭、福岡大学
3. 平井 崇顕、齊藤 圭亮、野地 智康、石北 央「フィコシアノビリリン結合光センサー蛋白質の吸収波長の制御機構」学術変革領域・光合成ユキビティ 第二回領域会議 (2024 年 2 月 19 日~20 日)、2 月 19 日、国内、ポスター、福岡大学
4. 野地 智康、田村 宏之、石北 央、齊藤 圭亮「PixD 光受容体の 2 つ立体構造異性体における電荷分離エナジェティクスの違い」, 学術変革領域・光合成ユキビティ 第二回領域会議 (2024 年 2 月 19 日~20 日)、2 月 19 日、国内、ポスター、福岡大学
5. 齊藤 圭亮、辻村 真樹、鍵本 拓海、石北 央「光合成光捕集蛋白質における環境適応機構の解明」, 第 61 回日本生物物理学会年会 (2023 年 11 月 14 日~16 日)、11 月 16 日、国内、招待講演、口頭、名古屋国際会議場
6. 辻村 真樹、千葉義大、齊藤 圭亮、石北 央、「ヘリオロドプシンのプロトン移動に伴う水素結合ネットワーク上の構造変化」, 第 61 回日本生物物理学会年会 (2023 年 11 月 14 日~16 日)、11 月 16 日、国内、ポスター、名古屋国際会議場
7. 陳 楊、齊藤 圭亮、石北 央「光化学系 II における  $Mn_4CaO_5$  クラスターの中間  $S_2$  状態形成を制御する重要な因子」第 61 回日本生物物理学会年会 (2023 年 11 月 14~16 日)、11 月 14 日、国内、口頭、名古屋国際会議場
8. 齊藤 昌弘、齊藤 圭亮、石北 央「Mn を Fe に置換した水分解酸素発生反応触媒における反応性の解明」第 61 回日本生物物理学会年会 (2023 年 11 月 14~16 日)、11 月 14 日、国内、口頭、名古屋国際会議場
9. 城戸 功史朗、野地 智康、川上 恵典、齊藤 圭亮、石北 央「フィコビリノームにおける エネルギー伝達経路」第 13 回 CSJ 化学フェスタ 2023 (2023 年 10 月 17 日~19 日)、10 月 17 日、国内、ポスター、タワーホール船堀
10. 坂田 元業、辻村 真樹、齊藤 圭亮、石北 央「ベストロドプシンの長波長化メカニズムの解明」第 13 回 CSJ 化学フェスタ 2023 (2023 年 10 月 17 日~19 日)、10 月 19 日、国内、ポスター、タワーホール船堀
11. 陳楊、齊藤圭亮、石北央” Factors Influencing the Intermediate- $S_2$ -State Formation of the  $Mn_4CaO_5$  Cluster in Photosystem II”, 第 13 回 CSJ 化学フェスタ 2023 (2023 年 10 月 17 日~19 日)、10 月 18 日、国内、ポスター、タワーホール船堀
12. 野地 智康、田村宏之、齊藤 圭亮、石北 央 “Difference in the charge-separation energetics between distinct conformers in the PixD photoreceptor”, 15th Symposium on Discovery, Fusion, Creation of New Knowledge by Multidisciplinary computational Sciences (2023 年 10 月 2 日~3 日)、10 月 3 日、国際、ポスター、つくば国際会議場
13. 齊藤圭亮、辻村真樹、三橋孝司、鍵本拓海、石北央「光合成光捕集蛋白質における光吸収波長の制御機構」, 17 回分子科学討論会 2023 大阪 (2023 年 9 月 12 日~15 日)、9 月 15 日、国際、口頭、大阪大学豊中キャンパス
14. 田村宏之、齊藤圭亮、石北央「光化学系 II 型反応中心における電子トンネリング機構の理論研究」第 17 回分子科学討論会 2023 大阪 (2023 年 9 月 12 日~15 日)、9 月 15 日、国際、口頭、大阪大学豊中キャンパス

15. 辻村 真樹、斉藤 圭亮、石北 央「タンパク質中の水素結合における pKa と分子振動」, 第 17 回分子科学討論会 2023 大阪 (2023 年 9 月 12 日~15 日)、9 月 13 日、 国際、 口頭、大阪大学豊中キャンパス
16. 田村宏之「有機薄膜太陽電池における励起子の電荷分離機構の理論的解明」, 2023 光化学討論会 (2023 年 9 月 5 日~7 日)、9 月 5 日、 国内、 口頭、 広島国際会議場
17. 石北 央 “Proton-Coupled Electron Transfer in Photosystem II”, Gordon Research Conference (2023 年 7 月 23 日~28 日)、7 月 25 日、 国際、招待講演、Grand Summit Hotel at Sunday River
18. 邱林昊、斉藤圭亮「カロテノイドによるエネルギー捕集・散逸機構の解明」学術変革領域研究(A)「光合成ユビキティ」第 1 回領域会議 (2023 年 7 月 19 日~20 日)、7 月 20 日、 国内、 口頭、大阪大学蛋白質研究所
19. 辻村真樹、斉藤圭亮「アンテナ蛋白質における光吸収・エネルギー伝達の pH 依存性の解明」学術変革領域研究(A)「光合成ユビキティ」第 1 回領域会議 (2023 年 7 月 19 日~20 日)、7 月 20 日、 国内、 口頭、阪大学蛋白質研究所
20. 斉藤圭亮「超分子複合体におけるエネルギー移動ダイナミクスの解明」, 学術変革領域研究(A)「光合成ユビキティ」第 1 回領域会議 (2023 年 7 月 19 日~20 日)、7 月 20 日、 国内、 口頭、大阪大学蛋白質研究所
21. 辻村 真樹、石北 央「蛋白質の吸収波長制御機構の解明」, 第 23 回日本蛋白質科学会年会 (2023 年 7 月 5 日~7 日)、7 月 5 日、 国際、ポスター、名古屋国際会議場
22. 田村 宏之「光エネルギー変換における動的エキシトンの基礎機構の理論的解明」学術変革領域研究 (A) 領域会議 (2023 年 6 月 30 日~7 月 1 日)、6 月 30 日、 国際、口頭、台北 陽明交通大学
23. 辻村 真樹、菅野 南花、石北 央、斉藤 圭亮「フコキサンチン-クロロフィル a/c タンパク質複合体における吸収波長の変化機構」, 第 30 回光合成セミナー2023 (2023 年 6 月 24 日~25 日)、6 月 25 日、 国内、 口頭、名古屋工業大学 4 号館ホール
24. 田村 宏之 “Combined Electronic Structure and Quantum Dynamical Analysis for Singlet Fission”, 10th Jubilee Singlet Fission Workshop (2023 年 6 月 17 日~20 日)、6 月 18 日、 国際、招待講演、コロラド州エステパーク Dao House
25. 陳 陽、斉藤 圭亮、石北 央, “Factors Influencing the Intermediate-S2-State Formation of the Mn4CaO5 Cluster in Photosystem II“, 第 22 回 東京大学生命科学シンポジウム BIO UT 駒場 (2023 年 6 月 16 日~17 日)、6 月 17 日、 国内、ポスター、東京大学駒場キャンパス KOMCEE
26. 千葉 義大、辻村 真樹、斉藤 圭亮、石北 央 “Theoretical chemical analysis of proton transfer pathways and conformational changes in heliorhodopsin 48C12”, 第 22 回 東京大学生命科学シンポジウム BIO UT 駒場 (2023 年 6 月 16 日~17 日)、6 月 17 日、 国内、ポスター、東京大学駒場キャンパス KOMCEE
27. 沖 樹、斉藤 圭亮、石北 央 “Extracellular electron transfer pathways in the multi-heme MtrABC complex”, 第 22 回 東京大学生命科学シンポジウム BIO UT 駒場 (2023 年 6 月 16 日~17 日)、6 月 17 日、 国内、ポスター、東京大学駒場キャンパス KOMCEE

(3) その他

プレスリリース:

「光合成反応における光損傷と修復のメカニズム解明 —傷ついたタンパク質を見つけて分解するしくみを明らかに—」2023年11月21日 岡山大学・摂南大学・東京大学

<https://www.rcast.u-tokyo.ac.jp/ja/news/release/20231121.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	○	40,000	0
Pegasus			
Wisteria/BDEC-01			

※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。