

## 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 における電子移動の終着点である 2 つのキノン( $Q_A$ ,  $Q_B$ )の近く(いわゆる還元側)に存在するアミノ酸残基 D1-Tyr246 と D2-Tyr244 の役割を明らかにした。これらの残基は  $Q_A$  と  $Q_B$  の間に位置する鉄に配位している重炭酸塩に水素結合をしている。重炭酸塩と D1-Tyr246 と D2-Tyr244 が作る水素結合ネットワークがキノンへの電子移動を制御していることを明らかにした[5]。

【成果 2】光化学系 II 反応中心において、反応は中心クロロフィルとフェオフィチンの間で起こる光誘起電子移動から始まる。フェオフィチンに移動した電子はキノン  $Q_A$  へとさらに電子移動する。この電子移動がフェオフィチンと  $Q_A$  との間に位置する D2-Trp253 により量子力学的虚の状態として仲介される超交換機構により起こっていることを明らかにした[6]。

【成果 3】 $Mn_4CaO_5$  錯体における水分解・酸素発生反応の触媒機構について、特に初期段階におけるプロトン移動に着目して、これまでの研究をレビューし、今後の課題をまとめた[2]。

##### 2.2 その他の光合成蛋白質に関する研究

【成果 4】光合成生物において光を捕集するアンテナ蛋白質の発現を制御する光受容蛋白質において、通常はプロトン化して水素結合ドナーとして働くリシンアミノ酸側

鎖が、脱プロトン化して水素結合アクセプターの働きをしていることを明らかにした[9].

【成果 5】光合成生物において種々の蛋白質発現を制御するフィコシアノビルリン結合型光受容蛋白質において、フィコシアノビルリンの吸収する波長を構造的に制御している機構を明らかにした[8].

【成果 6】光合成反応中心の電荷分離に伴う構造変化が時間分解構造解析により報告された. この構造変化は必ずしも電荷分離反応とは関係ないことを明らかにした[8].

【成果 7】近赤外光を吸収する特殊なクロロフィルを持つ生物種において、光化学系 I が電子移動を実現している寄港を明らかにした[4].

### 2.3 その他の研究

【成果 8】短鎖脂肪酸を特異的に認識する GPCR 蛋白質である FFA2 の構造解析を行い、その構造に基づいて脂肪酸の鎖長を選択する機構を明らかにした[3].

【成果 9】量子化学計算と蛋白質構造データベースの網羅的解析により、蛋白質構造における水素結合距離を決定する要因を明らかにした. その要因は第一に水素結語ドナーとアクセプター分子種が持ち合わせている元来の  $pK_a$  差, 第二に水素結合の周囲の蛋白質環境による静電的相互作用, 第三に蛋白質による構造的拘束である[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

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てきた. これらにより「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. また、創薬標的として注目されている蛋白質の機能解明もおこなった. この知見を実際の創薬研究へと発展させることが期待される.

## 5. 成果発表

### (1) 学術論文

- [1] Masaki Tsujimura, Hiroshi Ishikita, Keisuke Saito “Determinants of hydrogen bond distances in proteins”, *Phys. Chem. Chem. Phys.* (2025) in press doi: 10.1039/D5CP00511F
- [2] Hiroshi Ishikita Keisuke Saito “Photosystem II: Probing protons and breaking barriers”, *Biochemistry* 64 (2025) 1895-1906 doi: 10.1021/acs.biochem.5c00112
- [3] Mai Kugawa, Kouki Kawakami, Ryoji Kise, Carl-Mikael Suomivuori, Masaki Tsujimura, Kazuhiro Kobayashi, Asato Kojima, Wakana J. Inoue, Masahiro Fukuda, Toshiki E. Matsui, Ayami Fukunaga, Junki Koyanagi, Suhyang Kim, Hisako Ikeda, Keitaro Yamashita, Keisuke Saito, Hiroshi Ishikita, Ron O. Dror, Asuka Inoue, Hideaki E. Kato “Structural insights into lipid chain-length selectivity and allosteric activation/inactivation mechanism of FFA2”, *Nat. Commun.* 16 (2025) 2809 doi: 10.1038/s41467-025-57983-4
- [4] Tomoyasu Noji, Keisuke Saito, Hiroshi Ishikita “How the electron-transfer cascade is maintained in chlorophyll-d containing photosystem I”, *Biochemistry* 64 (2024) 203-212 doi: 10.1021/acs.biochem.4c00521
- [5] Ruri Nihara, Keisuke Saito, Hiroshi Kuroda, Yasuto Komatsu, Yang Chen, Hiroshi Ishikita, Yuichiro Takahashi “D1-Tyr246 and D2-Tyr244 in photosystem II: Insights into bicarbonate binding and electron transfer from  $Q_A^{\bullet-}$  to  $Q_B$ ”, *Biochim. Biophys. Acta* 1866 (2024) 149507 doi: 10.1016/j.bbabo.2024.149507
- [6] Keisuke Saito\*, Hiroyuki Tamura, Hiroshi Ishikita “Superexchange electron transfer and protein matrix in the charge-separation process of photosynthetic reaction centers”, *J. Phys. Chem. Lett.* 15 (2024) 9183-9192 doi: 10.1021/acs.jpcclett.4c02232
- [7] Tomoyasu Noji, Keisuke Saito, Hiroshi Ishikita “Absence of a link between stabilized charge-separated state and structural changes proposed from crystal structures of a photosynthetic reaction center”, *Commun. Chem.* 7 (2024) 192 doi: 10.1038/s42004-024-01281-5
- [8] Tomoyasu Noji, Keisuke Saito, and Hiroshi Ishikita “Molecular origins of absorption wavelength variation among phycocyanobilin-binding proteins”, *Biophys. J.* 123 (2024) 3375-3385 doi: 10.1016/j.bpj.2024.08.001
- [9] Takayuki Nagae, Mitsuhiro Takeda, Tomoyasu Noji, Keisuke Saito, Hiroshi Aoyama, Yohei Miyanoiri, Yutaka Ito, Masatsune Kainosho, Yuu Hirose, Hiroshi Ishikita, Masaki Mishima “Direct evidence for a deprotonated lysine serving as a “H-bond acceptor” in a photoreceptor protein”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 121 (2024) e2404472121 doi: 10.1073/pnas.2404472121

(2) 学会発表

1. 後藤 彰仁、石北 央、斉藤 圭亮、杉山 高康 “DNP-MRI molecular probe with high enzymatic reactivity for in vivo detection of dipeptidyl peptidase-4 activity” , Pacificchem 2025 (2025 年 12 月 15 日-20 日)、国際、Honolulu, HI, USA
2. 辻村 真樹、今野 雅恵、斉藤 圭亮、井上 圭一、石北 央 “Converting a chloride-pumping rhodopsin into a proton pump” , 2025 Proton Reactions BPS Conference (2025 年 8 月 3 日-8 日)、国際、Estes Park, CO, USA
3. 吉原 辰哉、田村 宏之、斉藤 圭亮、石北 央「光合成一型反応中心におけるクロロフィルと鉄硫黄クラスター間の電子移動の解析」第 14 回 CSJ 化学フェスタ 2024 (2024 年 10 月 22 日-24 日)、10 月 24 日、国内、ポスター、タワーホール船堀
4. 平井 崇顕、野地 智康、斉藤 圭亮、石北 央「ビリニン類結合蛋白質の吸収波長が広範囲に分布する要因の解明」第 14 回 CSJ 化学フェスタ 2024 (2024 年 10 月 22 日-24 日)、10 月 24 日、国内、ポスター、タワーホール船堀
5. 邱 林昊、斉藤 圭亮、石北 央「光捕集複合体における色素の励起状態の解析」第 14 回 CSJ 化学フェスタ 2024 (2024 年 10 月 22 日-24 日)、10 月 23 日、国内、ポスター、タワーホール船堀
6. 斉藤 圭亮 “A Role of Protein Matrix in Superexchange Electron Transfer in Charge Separation” , 12th International Conference of Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability Conference (2024 年 10 月 13 日-19 日)、10 月 17 日、国際、招待講演、Bahcesehir University、イスタンブール、トルコ
7. 斉藤 圭亮、西尾 俊哉、陳 楊、石北 央 “Proton behavior in the oxygen-evolving cluster during the S2 to S3 transition” , 2nd Asia-Oceania International Congress on Photosynthesis (2024 年 9 月 18 日-21 日)、9 月 20 日、国際、ポスター、神戸ファッションマート
8. 辻村 真樹、斉藤 圭亮、石北 央「タンパク質における水素結合の自由エネルギー差の予測」第 18 回分子科学討論会 (2024 年 9 月 18 日-21 日)、9 月 18 日、国内、口頭、京都大学吉田キャンパス
9. 吉原 辰哉、田村宏之、斉藤 圭亮、石北 央「光合成 I 型反応中心におけるクロロフィル-鉄硫黄クラスター間の電子移動の解析」第 31 回 光合成セミナー2024 (2024 年 6 月 29 日-30 日)、6 月 30 日、国内、口頭、龍谷大学深草キャンパス 22 号館
10. 邱 林昊、関 莊一郎、宮田 知子、牧野 文信、田中 秀明、栗栖 源嗣、難波 啓一、藤井 律子、斉藤 圭亮、石北 央「光捕集複合体におけるカロテノイドの励起状態解析」第 31 回光合成セミナー2024 (2024 年 6 月 29 日-30 日)、6 月 29 日、国内、ポスター、龍谷大学深草キャンパス 22 号館
11. 野地 智康、斉藤 圭亮、石北 央「光合成反応中心における電荷分離状態の安定化に関与する構造変化の解析」第 31 回光合成セミナー2024 (2024 年 6 月 29 日-30 日)、6 月 29 日、国内、ポスター、龍谷大学深草キャンパス 22 号館
12. 平井 崇顕、野地 智康、斉藤 圭亮、石北 央「ビリニン類結合蛋白質の吸収波長が広範囲に分布する要因の解明」第 31 回光合成セミナー2024 (2024 年 6 月 29 日-30 日)、6 月 29 日、国内、ポスター、龍谷大学深草キャンパス 22 号館

13. 辻村 真樹、斉藤 圭亮、石北 央 “pKa, stretching vibrational frequencies, and nuclear magnetic”, 第 21 回国際生物物理会議 & 日本生物物理学会第 62 回年会 (2024 年 6 月 24 日～28 日)、6 月 25 日、 国際、 ポスター、国立京都国際会館

(3) その他  
特になし

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	○	32,400	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。			