

受付ID	15a-28
分野	生命

## 蛋白質におけるプロトン移動反応と分子機構の理論解析

### Theoretical investigation of proton transfer reactions and molecular mechanisms 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<sup>+</sup>)移動反応はあらゆる酵素反応において重要な役割を演じている。しかし多くの場合、プロトン移動の分子機構は不明である。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、プロトン移動の機構を調べる手段を確立し、それをさまざまな蛋白質（光受容蛋白質・光合成蛋白質・物質輸送蛋白質）に応用することにより酵素の反応機構の解明につなげることである。

#### 2. 研究成果の内容

##### 【成果1】光合成蛋白質 PhotosystemII (PSII)におけるプロトン移動機構の解明

光合成では、PS II 蛋白質の中で太陽エネルギーを利用して水が酸素に分解される。その際、触媒部位 Mn<sub>4</sub>CaO<sub>5</sub> 錯体において、副産物としてプロトンを放出する水分解反応が4段階で起こる。第1段階では1つのプロトンが放出されることが知られているが、この詳細な分子機構は不明であった。今回、私たちは蛋白質の結晶構造を利用して量子化学計算手法 quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM)を用いることでその機構を明らかにした。

第1段階では錯体内の O4 と呼ばれる酸素原子からプロトンが放出され、近くにあるプロトン移動経路(図1)を通過し、蛋白質外に除去される。そのプロトン移動経路は、蛋白質の中に堅く固定された水分子の鎖で出来ている。水分子の鎖は互いに水素結合でつながっているが、その水素結合を順に掛け替えることによって13Åにもおよぶ長距離プロトン移動が起こることが明らかになった。

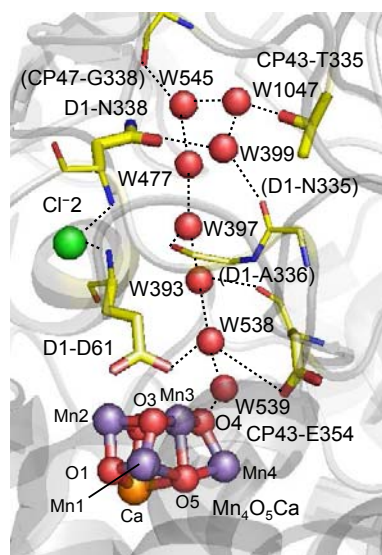


図1：8つの水分子(赤球)からなるプロトン移動経路

### 【成果2】水輸送蛋白質 Aquaporin の水素結合ネットワークの解析

哺乳類で多くの機能に関わる水輸送膜蛋白質 human aquaporin 4 では、内部に水分子の鎖があり水素結合ネットワークを形成しているにもかかわらず上記 PSII のようなプロトン移動は起こらない。その原因を明らかにするために、(1) QM/MM 法による水分子鎖の構造最適化・水素結合ネットワークのエネルギー計算、(2)分子動力学シミュレーションを行った。その結果、プロトン移動が起こらないのは、水分子鎖の中間に存在するプロトンに対するエネルギー障壁のためであり、その障壁を作り出している原因は特定のアミノ酸配列(Asn-Pro-Ala モチーフ)が水素結合ネットワークを分断していることにあることが明らかになった。

### 3. 学際共同利用として実施した意義

計算機の使用に当たって、筑波大学計算科学研究センターの重田教授のグループより、技術面・学術面の両面から多くの助言をいただいた。それにより、初めての利用だったにもかかわらず、非常にスムーズにプログラムの導入を行うことに成功し、すぐに実際の計算を始めることが出来た。また一般に、QM/MM 計算に先立って蛋白質の構造を適切にサンプリングする必要があるが、これに際し同グループが開発している構造サンプリング手法のノウハウを役立てることができた。結果的に、学際共同利用プロジェクトのおかげで研究が大きく加速した。

### 4. 今後の展望

これまでの研究成果によって、計算機を使用して蛋白質内のプロトン移動を調べるための手法・プログラムの大部分が確立された。今後はこれらの手法を他の蛋白質にも応用していくとともに、誰もがより簡単に使える便利な手法へと改良していきたいと考えている。

### 5. 成果発表

#### (1) 学術論文

- K. Saito, A. W. Rutherford, H. Ishikita, “Energetics of proton release on the first oxidation step in the water-oxidizing enzyme”, *Nature Communications* 6:8488 2015
- T. Takaoka, N. Sakashita, K. Saito, H. Ishikita, “pKa of a proton conducting water chain”, *The Journal of Physical Chemistry Letter* in press
- 斉藤圭亮, 石北央「クロロフィルのかたちは機能にどう影響を及ぼすか: Photosystem II を例に」植物の生長調節, 50, 133-138

#### (2) 学会発表

- K. Saito, “The first proton release on the water-oxidizing reaction in photosystem II”, 7th OCARINA International Symposium, 2016年3月17日, 大阪, 招待講演

- K. Saito, “Mechanism of long-distance proton transfer in photosynthetic protein”, The Seventh Asia-Pacific Conference of Theoretical and Computational Chemistry (APCTCC 7), 2016年1月26日, 高雄(台湾), 招待講演
- 石北 央「白質結晶構造では見えない H+が語る化学」大阪大学蛋白質研究所 セミナー「構造を基盤とする蛋白質科学における未解決問題」, 2016年3月2日, 東京, 招待講演
- 坂下尚紀, 斉藤圭亮, 石北 央「水チャネルタンパク質 Aquaporin の水チェーンにおける水素結合ネットワークの解析」第5回 CSJ 化学フェスタ, 2015年10月15日, 優秀ポスター発表賞受賞
- 池田拓也, 斉藤圭亮, 石北 央「タンパク質におけるプロトン移動メカニズムの解明」第5回 CSJ 化学フェスタ, 2015年10月15日, 優秀ポスター発表賞受賞

(3) その他

- プレスリリース「光合成水分解反応初期に利用される水素イオン移動経路を解明 ～これまでの定説を覆す結果に～」2015年10月7日, 東京大学, [http://www.rcast.u-tokyo.ac.jp/pressrelease/2015\\_ja.html#20151007](http://www.rcast.u-tokyo.ac.jp/pressrelease/2015_ja.html#20151007)

使用計算機	使用計算機に○	配分リソース*
HA-PACS		
HA-PACS/TCA		
COMA	○	4200 時間
※配分リソースについては 32node 換算時間をご記入ください。		