

受付 ID	16a12
分野	生物

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^+)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】嫌気性細菌のマルチヘムシトクロム蛋白質の構造と電子移動機構解明

酸素のない環境で生きるある種の細菌は、鉱物中の金属酸化物に電子を渡すことでエネルギーを確保している。そのため、これらの細菌は細胞内部から細胞外の金属酸化物まで電子を長距離に輸送する必要がある。この電子輸送に関連するタンパク質の一つである MtrF（外膜のマルチヘムシトクロム）蛋白質に関しては、これまでにその分子構造が明らかになっており、その構造をもとに電子の移動経路が推測されていたが、詳細なメカニズムは未だ分かっていなかった。私たちは、これまで発表されていた MtrF の構造の一部に誤りがあることを発見し、シミュレーションにより正確な構造を計算した。その結果、今まで考えられていたものとは異なる新しい電子の移動経路（図1）を発見した。また、MtrF は、緻密な機構によって効率的に電子を移動させているこ

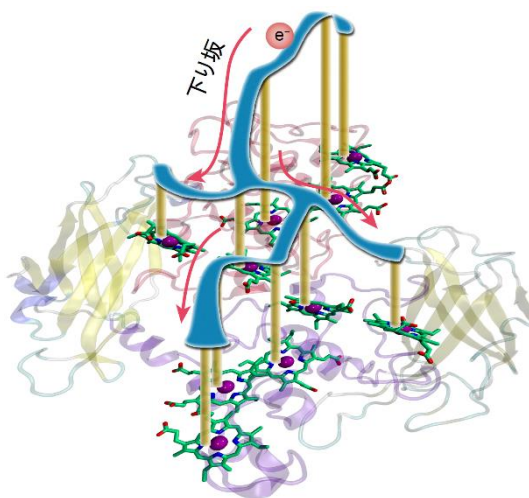


図1 : MtrF 中で電子移動経路となるヘムの位置と、その電子移動ポテンシャルの模式図

とを明らかにした。

【成果2】光合成蛋白質 PhotosystemII (PSII)におけるプロトン移動機構の解明

光合成で水分解を行う PSII 蛋白質において、反応で生成されるプロトンの排出経路を昨年までに明らかにした。本年度は、そのプロトン移動経路をより詳細に調べるため、プロトン移動と密接に関係し、かつ実験で観測することができる酸解離定数 pKa に着目した。(1)量子的なエネルギー差と(2)プロトンの NMR 化学シフトという2つの独立な量子化学計算から pKa の値を算出するための式をそれぞれ発見し、pKa 値の計算手法を確立した。その手法をプロトン移動経路にある水分子に適用した。プロトン移動経路の入り口にある3つの水分子は互いに強く相互作用しており、触媒部位のプロトン放出の駆動力を遠くへ伝える媒体として働いていることがわかった。

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。GPU マシン利用は当年が初めてであったが、助言によりスムーズなプログラム導入に成功した。また QM/MM 計算に先立つ蛋白質の構造サンプリングに際し、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。

4. 今後の展望

本研究により蛋白質内のプロトン移動だけでなく、電子移動や蛋白質構造についても、大規模計算により詳細に解析できることが示された。今後も引き続いてこれらの手法・プログラムを改良し、これまで研究課題としてきた反応機構をより詳細に明らかにするとともに、様々な構造や機能を持つ別の蛋白質にも応用していきたい。

5. 成果発表

(1) 学術論文

- H. C. Watanabe, Y. Yamashita, H. Ishikita, "Downhill electron transfer pathways in a multi-heme MtrF", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 114, 2916-2921 (2017)
- R. Hasegawa, K. Saito, T. Takaoka, H. Ishikita, "pKa of ubiquinone, menaquinone, phylloquinone, plastoquinone, and rhodoquinone in aqueous solution", *Photosynth. Res.*, doi: 10.1007/s11120-017-0382-y (2017)
- N. Sakashita, H. C. Watanabe, T. Ikeda, and H. Ishikita, "Structurally conserved channels in cyanobacterial and plant photosystem II", *Photosynth. Res.*, doi: 10.1007/s11120-017-0347-1 (2017)
- K. Saito, N. Sakashita, H. Ishikita, "Energetics of the proton transfer pathway for tyrosine D in photosystem II", *Aust. J. Chem.* 69 991-998 (2016)

- T. Takaoka, N. Sakashita, K. Saito, H. Ishikita, "pKa of a proton conducting water chain in photosystem II", *J. Phys. Chem. Lett.* **7**, 1925-1932 (2016)

(2) 学会発表

- H. C. Watanabe, Y. Yamashita, H. Ishikita, "Strategic modeling of channelrhodopsins and MtrF based on the correlation between protein structures and functions", 第54回生物物理学会, つくば市, 2016年11月 (招待講演), **若手招待講演賞受賞**
- H. Ishikita, "Water-splitting enzyme photosystem II, a model for artificial photosynthesis", UK-Japanese Frontiers of Science Symposium, Milton Keynes, 英国, 2016年11月 (招待講演)
- H. Ishikita, "Energetics of proton release on the first oxidation step in the water oxidizing enzyme", Protein Electrostatics Berlin 2016, Berlin, ドイツ, 2016年7月 (招待講演)
- H. Ishikita, "Proton transfer reactions in water oxidizing enzyme Photosystem II", International Conference on Photochemical Conversion and Storage of Solar Energy, St. Petersburg Moskovskye Vorota, ロシア, 2016年7月 (招待講演)
- K. Saito, "Energetics of the proton transfer from tyrosine D in photosystem II: comparison with tyrosine Z", 7th Meeting "Photosynthesis Research for Sustainability", Pushchino, ロシア, 2016年6月 (招待講演)
- 河島圭佑, 齊藤圭亮, 石北 央「光合成反応中心における同一キノン分子が示す異なる酸化還元電位」, 光合成セミナー2016: 反応中心と色素系の多様性, 龍谷大学深草キャンパス, 2016年7月, **三室賞受賞**
- 河島圭佑, 石北 央「同一メナキノン分子の酸化還元電位が2種の光合成反応中心蛋白質で500mVも異なる理由」, 第6回 CSJ 化学フェスタ, タワーホール船堀, 2016年11月, **優秀ポスター発表賞受賞**
- 鈴木 匠, 齊藤圭亮, 石北 央「光合成周辺アンテナタンパク質 LHCII における色素励起状態の計算とエネルギー移動経路の解明」第6回 CSJ 化学フェスタ, 2016年11月, タワーホール船堀, **優秀ポスター発表賞受賞**

(3) その他

- 渡邊宙志, 第54回生物物理学会 **若手招待講演賞** 2016年11月
- 渡邊宙志, 第19回理論化学討論会 **優秀講演賞** 2016年6月

使用計算機	使用計算機に○	配分リソース*
HA-PACS	○	1920
HA-PACS/TCA		
COMA	○	3120
※配分リソースについては 32node 換算時間をご記入ください。		