

受付 ID	17a30
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

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^+)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】蛋白質内の H_3O^+ イオンの存在条件を解明

水溶液中ではプロトンは通常 H_3O^+ の形で存在するが、蛋白質中においても H_3O^+ の形で存在しうると考えられる。最近、中性子回折による蛋白質構造解析により2つの異なる蛋白質 phycocyanobilin-ferredoxin oxidoreductase (PcyA) と xylose isomerase (XI) の中に H_3O^+ が存在するとの報告が独立になされた。本当にそれらの蛋白質の中に H_3O^+ が存在しているのかを、我々は量子化学的な理論計算により確かめた。その結果、PcyA において中性子回折で存在が示唆されたサイトには H_3O^+ は存在し得ず、 H_2O の形にならざるを得ない一方、XI におけるサイトには H_3O^+ が存在可能であることが示された。さらに両者の比較から、蛋白質の中に H_3O^+ が存在する条件は「そのサイトが3つ以上のカルボン酸に囲まれていること」であることがわかった。

【成果2】光合成蛋白質 Photosystem II における水分解・酸素発生反応機構の解明

植物等の光合成蛋白質 Photosystem II は、水分解・酸素発生反応を触媒する。その触媒部位 $MnCaO_4$ 錯体の分子構造は数年前に明らかになったが、反応の分子機構はまだ分かっていない。この反応のサイクルでは4段階の過程を経るが、その4段階で起こる反応のすべて（プロトンの放出、酸素分子の形成、水の再取り込み）を分子レベルで詳細かつ合理的に説明するモデルは存在していなかった。我々は、量子化学的計算と分子動力学シミュレーションを組み合わせた理論解析を行い、そのような反応モデ

ルをはじめて提出した。そこでは、錯体中の「O4」酸素原子と「W1」と呼ばれる水分子が反応し、酸素分子を形成する。

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。メニーコア CPU マシンの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の導入に成功した。

4. 今後の展望

当年度までの研究で、蛋白質内プロトン移動の機構を調べる手段が確立され、それをさまざまな蛋白質へ応用することにより酵素の反応機構の解明につながる事が明らかとなった。今後は、プロトン移動だけでなく、蛋白質内電子移動やエネルギー移動についても研究対象とし、本研究を発展させていきたい。

5. 成果発表

(1) 学術論文

- K. Kawashima, H. Ishikita, **Chem. Sci.** (2018) doi 10.1039/C8SC00424B
- K. Kawashima, T. Takaoka, H. Kimura, K. Saito, H. Ishikita, **Nat. Commun.** **9** (2018) 1247
- K. Saito, T. Suzuki, H. Ishikita, **J. Photochem. Photobiol. A** **358** (2018), 422-431
- S. Kishi, K. Saito, Y. Kato, H. Ishikita, **Photosynth. Res.** **134** (2017) 193-200.
- H. C. Watanabe, M. Kubillus, T. Kubar, R. Stach, B. Mizaikoff, H. Ishikita, **Phys. Chem. Chem. Phys.** **19** (2017) 17985-17997.
- T. Ikeda, K. Saito, R. Hasegawa, H. Ishikita, **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.** **56** (2017) 9151-9154.
- N. Sakashita, H. C. Watanabe, T. Ikeda, K. Saito, H. Ishikita, **Biochemistry** **56** (2017) 3049-3057.
- K. Kawashima H. Ishikita, **Biochemistry** **56** (2017) 3019-3028.

(2) 学会発表

- ○Hiroshi Ishikita “Proton release, O₂ evolution, water incorporation, and recovery of the water-oxidizing enzyme” 5th International Workshop on Solar Energy for Sustainability, 2018 年 3 月 20~22 日、Nanyang Technological University, Singapore

- ○Hiroshi Watanabe “Quantum Chemical effects on solvation incorporated by size-consistent multipartitioning quantum mechanics/molecular mechanics method”, Internationa Symposium on Molecular Science, 2018 年 3 月 20~23 日、日本大学
- ○斉藤圭亮「光合成蛋白質内の水分子のシミュレーション」第 5 回 JCAHPC セミナー, 2017 年 10 月 21 日、東京大学
- ○K.Saito “Theoretical investigation based on molecular structures reveals reaction mechanisms in photosynthetic membrane proteins” 第 55 回生物物理学会年会, 2017 年 9 月 19 日、熊本大学
- ○Hiroshi Ishikita 「生体分子活性サイトの構造機能相関解明への新規アプローチ」第 55 回日本生物物理学会年会, 2017 年 9 月 19 日、熊本大学
- ○斉藤圭亮「光合成蛋白質の理論解析で知るプロトンと水の移動経路」平成 29 年度ラン藻ゲノム交流会, 2017 年 6 月 24 日、東京大学
- ○Hiroshi Watanabe “Electron transfer pathways in a multiheme cytochrome MtrF”, 第 17 回日本蛋白質科学会年会, 2017 年 6 月 20~22 日、東北大学
- ○石北 央 「電子伝達蛋白質がつかないだもの」, 2017 年 バイオ工学シンポジウム, 2017 年 7 月 4 日、大和屋本店、松山市
- ○Hiroshi Ishikita “Electron transfer and proton transfer in proteins”, Frontier Forum on Nanoscience, 2017 年 5 月 4~7 日、Dubrovnik, Croatia

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
HA-PACS/TCA	○	38500	0
COMA	○	162000	0
Oakforest-PACS	○	399200	0
※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。			