

課題名 (タイトル) :

光合成膜蛋白質 PSII のシミュレーション

利用者氏名 : ○緒方 浩二*, 打田 和香**, 中田 浩弥**, 曾 旭*

所属 : *社会知創成事業 イノベーション推進センター 特別研究室プログラム 中村特別研究室

**東京工業大学大学院 生命理工学研究科 生体分子機能工学専攻

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

光合成の初期過程を担っている膜蛋白質 Photosystem II (PSII) は、20 個のサブユニット (総分子量 350kDa) を持つチラコイド内在性複合体蛋白質であり、光エネルギーを利用して水の酸化を行っている。その構造は X 線構造結晶解析法で決定され、Protein Data Bank (PDB) に登録されている。それら X 構造から活性中心などの詳細な構造が明らかになっている。この PSII 蛋白質で行われている光エネルギーを利用した水の酸化反応は、PSII の内部にある Mn_4O_5Ca 錯体と周りの残基の協調により、周期的な 5 つの状態 ($S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_4 \rightarrow S_0$) を経て行われているが、その詳細はまだ分かっていない。

本研究は、下記の 3 つのテーマについて ricc を用いてシミュレーション及び解析を行った。

- (1) PSII の MD シミュレーション
- (2) Mn_4O_5Ca 錯体とその周りの QM/MD シミュレーション
- (3) FMO を用いた PSII の電子状態計算

2. 具体的な利用内容、計算方法

上記に示した三つのテーマに関して、具体的内容は下記に示す。

(1) PSII の MD シミュレーション

昨年度の課題で ricc を利用して図 1 に示す系の 1 ns の MD シミュレーションを終了した。本課題に於いては更に 8 ns、合計 10 ns までの MD シミュレーションを行い、そのトラジェクトリの解析を行った。トラジェクトリの解析は、蛋白質の揺らぎや Oxygen Evolving Center (OEC) 付近の水の動き、更に、チラコイド膜と PSII 複合体の揺らぎの相関などについて解析を行った。

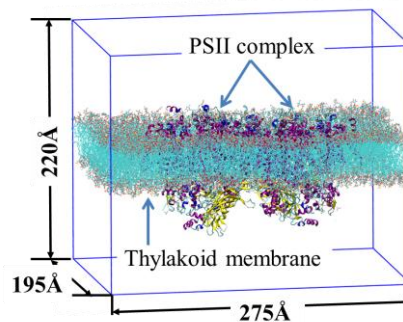


図 1 PSII 複合体とチラコイド膜

(2) Mn_4O_5Ca 錯体とその周りの QM/MD シミュレーション

当研究室において、光合成膜タンパク質 PS II の 1.9 Å の X 線結晶構造を用い、 S_1 で考えられる 3 つの異なる酸化数配置の計算が量子化学計算により求められている。また、周囲の熱ゆらぎを取り込む、量子化学計算と Langevin 方程式を組み合わせた MD シミュレーション (QM/Langevin-MD) が、当研究室において、作成されている。本研究に於いては、 S_1 の 3 つの異なる酸化数配置 {(III, IV, IV, III), (IV, IV, III, III), (III, IV, III, IV)} を初期構造に用いて、 Mn_4O_5Ca クラスタとその周囲の残基を抽出し、QM/Langevin-MD を行った。

(3) FMO を用いた PSII の電子状態計算

FMO を用いた PSII の量子化学計算をするために、主に 3 通りの計算を行った。まず、光合成はスピンを持ちそれに適した量子化学の新規計算方法である FMO-UHF 法の開発とテスト計算を実行した。また FMO-UHF を用いた分子の解析をするために、光合成の構造異性体およびアミノ酸変異体など計 42 種の構造最適化と振動計算をした。また光合成の優れた例として、酸素発生反応を有する 2 核 Mn 錯体の反応機構を解析した。

3. 結果

各テーマに関する結果の詳細を下記に示す。

(1) PSII の MD シミュレーション

図2は10 ns のシミュレーションにおける PSII 複合体、及び、PSII 単体 (A-Z 鎖を A 鎖、また、a-z 鎖を B 鎖と表示) の時間に対する初期値からのずれ ($C\alpha$ -rmsd) を示している。このグラフから、PSII の複合体と単体両方とも $C\alpha$ -rmsd の値が一定になっており、シミュレーションは平衡に達していることが示唆される。また、複合体、単体ともに初期値からのずれは 2.0 Å 以下であり、一般的な大きさの蛋白質の MD シミュレーションと同じような rmsd の値を示している。このことから我々のシミュレーションは他の蛋白質のシミュレーションと比べて同等の精度であることが考えられる。

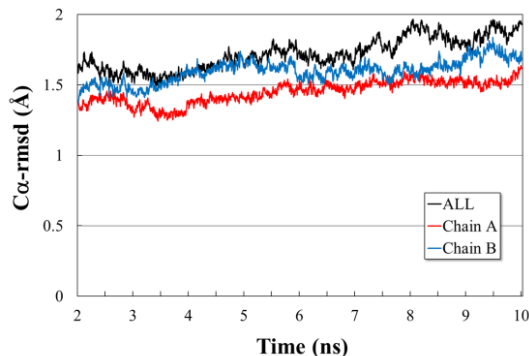


図 2 $C\alpha$ -rmsd のグラフ

図 3 は 4 種類の脂質の配置を示したものである。この図から 4 種類の脂質は PSII 蛋白質の周りに一様に分布していることが分かる。また、今まで行われている PSII の MD シミュレーションでは PG、特に DPPG だけを用いて作成された膜に PSII 蛋白質を配置し、シミュレーションを行っている場合が多い。しかし、図 3 を観察すると PG(緑)の個数が非常に少ないことが分かる。これは、本シミュレーションに於いては、シアノバクテリアと同じ組成のチラコイド膜のモデルを作成し、そこに PSII を配置している。従って、本シミュレーションは他の PSII のシミュレーションよりも実際の状態に近い動きをしていることが考えられる。

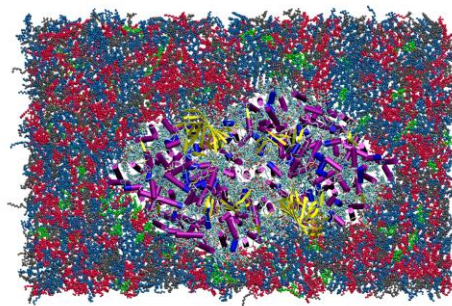


図 3 脂質の分布

MDGD(red), DGDG(blue), SQDG(black),
PG(green)

図 4 は脂質の XY 平面上での動きを示している。この結果から脂質はヘッ드의種類と脂肪酸の長さ、更には、脂肪酸に含まれている不飽和脂肪酸の数に依らず XY 平面上でブラウン運動の様な動きをしていることが観察される。

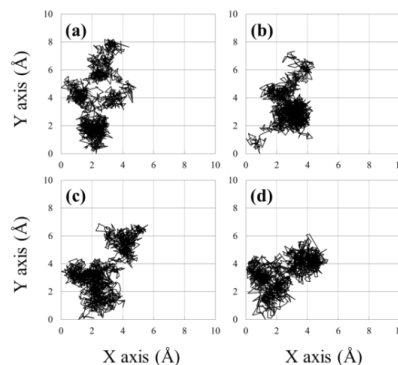


図 4 脂肪酸の XY 平面上での動き (a) DGDG sn-1 16:0, sn-2 16:0, (b) DGDG sn-1 18:3(6,9,12) sn-2 16:0, (c) SQDG sn-1 16:1 sn-2 16:0, and (d) PG sn-1 18:2 sn-2 16:0.

図 5 は各分子の揺らぎを表している。下記の図から PSII 複合体の内部はあまり揺らいでなく、外側は大きく揺らいでいることが観察される。特に、図の下側の大きな揺らぎを示している残基が多数存在している箇所はサブドメイン pbsO に位置し、このドメインが大きく揺らいでいることがトラジェクトリ解析から確認することが出来た。

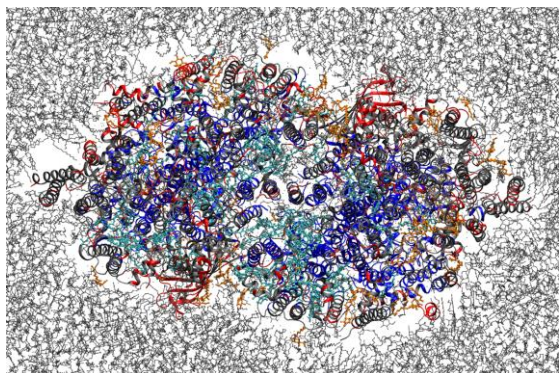


図 5 残基とリガンドの揺らぎ

小さな揺らぎを示した残基 (blue) 大きな揺らぎを示した残基 (red)

図 6 はシミュレーションで小さな揺らぎを示した水をボールモデルで表している。Umena らの報告(*Nature*, **473**, 55, 2011)によると、PSII の OEC 付近には 3 つの水が通り抜けることが出来るチャネルが存在している。このチャネルと小さな揺らぎを持った水の位置を比較すると、図中の経路 2 に小さな揺らぎを持った水が多く存在することが分かる。また、経路 1 と経路 3 は大きな揺らぎを持った水が多く存在している。これらの事を考慮すると、もしも、 S_0 状態から S_1 状態に遷移する際にプロトンがプロトン移動によって PSII 内部から放出されると仮定すると、プロトンは小さな揺らぎを持った水が多数存在する経路 2 を通って放出されたのではないかと考えられる。また、プロトンが H_3O^+ などのイオンとして移動したのであれば、経路 1 または経路 3 を通って放出されたのではないかと考えられる。また、酸素と OEC に供給される水は経路 1 か経路 3 を使ったのではないかと考えられる。

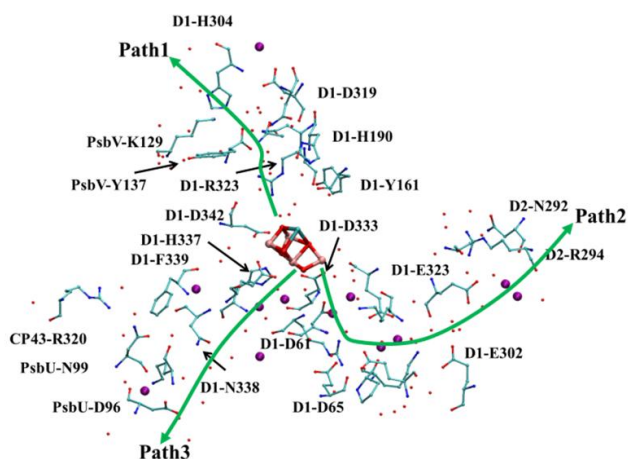


図 6 水、プロトン、酸素の排出及び供給経路

(2) Mn_4O_5Ca 錯体とその周りの QM/MD シミュレーション

QM/Langevin-MD から得られたトラジェクトリを解析することにより、3 つの異なる酸化数配置{(III, IV, IV, III), (IV, IV, III, III), (III, IV, III, IV)}がエネルギーに非常に大きな差がないことがわかった。このことから、 S_1 の酸化数配置は 3 つの重ね合わせであると考えられた。

また、これら 3 つのシミュレーションから、 Mn_4O_5Ca クラスタに直接配位している 7 つのアミノ酸 (D1-Glu333, CP-Glu354, D1-Asp342, D1-Ala344, D1-Glu189, D1-Asp170, D1-His332) のうち 3 つのアミノ酸 (D1-Glu333, CP-Glu354, D1-Ala344) が Mn の酸化数配置の変化と相関があることがわかった (図 7 の橙点線)。これら 3 つのアミノ酸のうち 2 つのアミノ酸 (CP-Glu354, D1-Ala344) は、FT-IR の実験結果と同様の傾向の結果であった。残りの 1 つのアミノ酸 (D1-Glu333) は、FT-IR の実験結果が得られていないものであった。これらのことから、このシミュレーションは、FT-IR の実験結果と同様の傾向の結果を得ることができた。

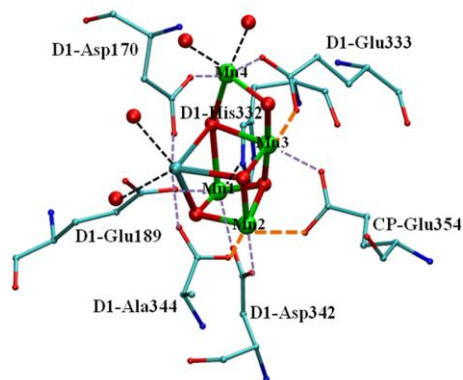


図 7 Mn_4O_5Ca と架橋している残基

(3) FMO を用いた PSII の電子状態計算

新規に開発した FMO-UHF について、計算精度と計算の効率を確認した。FMO-UHF は通常の ab initio 計算と比較して数倍の計算効率を示し、今後の解析に極めて重要である (*J. Chem Phys.* 受理)。また、PSII は赤外吸収スペクトルの実験と合致した妥当な計算結果が得られ、構造最適化を実行した 42 種が極小構造にあることが確かめられた。

2 核の Mn 錯体の反応機構は遷移状態を求めた。その

遷移状態の解析は極めて時間がかかる。そのため mdg3 の計算機を 10 日間利用する、特別な処理をして頂いている。未だ計算途中であり、3/20 頃の終了を予定している。全ての計算が終了しあとの、別途改めて計算結果の報告をする。

4. まとめ

チラコイド膜に埋めた PSII 複合体の MD シミュレーションを 10 ns 行った。シミュレーションのトラジェクトリの解析から、チラコイド膜を構成している脂質は脂質二重膜上をブラウン運動のような動きをしていることが確認された。また、各残基の揺らぎの解析から、OEC 近傍の残基はシミュレーションの間、小さな揺らぎを示した。更に、OEC 近傍の水の揺らぎを解析した結果、X 線構造の解析により示唆されている 3 つの水の経路に於いて、水、酸素、プロトンのそれぞれの排出または供給経路を示唆することが出来た。

QM/Langevin-MD に関しては、1 ps のトラジェクトリの解析の結果、 $\text{Mn}_4\text{O}_5\text{Ca}$ クラスタに配位している残基の中で、Mn の酸化数の違いで異なった動きをする残基に関して、シミュレーションの結果が FT-IR の実験結果と似た傾向を得ることが出来た。

新規手法である FMO-UHF の開発に成功し、さらに解析のため 42 種の安定構造が得られた。それらは今後の解析に書かせない極めて重要な計算結果である。

5. 今後の計画・展望

PSII 複合体の MD シミュレーションに関しては、更に 20ns 程度のシミュレーションを行い、OEC 近傍の残基の動きなどを観察することを行う。変異体の MD シミュレーションを実行して、野生型のシミュレーションと比較をすることにより、PSII の酸素発生機構に重要な残基の特定を行う予定である。

QM/Langevin-MD に於いては、PSII 複合体のシミュレーションと同様に長い時間発展を行い、計算から実験に提案できるものを探りながら、更なる解析を行う予定である。

平成 24 年度 RICC 利用研究成果リスト

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】

1. Kanjee, U., Ogata, K., Houry, W.A. Direct Binding Targets of the Stringent Response Alarmone (p)ppGpp, *Mol. Microbiology*, **85**, 1029-1043, 2012.
2. Nakata, H., Fedorov, D.G., Nagata, T., Yokojima, S., Ogata, K., Kitaura, K., and Nakamura, S. Unrestricted Hartree-Fock based on the fragment molecular orbital method: Energy and its analytic gradient. *J. Chem. Phys.*, **137**, 044110, 2012.

【国際会議などの予稿集、proceeding】

1. Waka Uchida, Yoshiro Kimura, Makoto Hatakeyama, Masamitsu Wakabayashi, Satoshi Yokojima, Koji Ogata, Shinichiro Nakamura A Study of QM/Langevin-MD Simulation for Oxygen-Evolving Center of Photosystem II, *SolChES*, in publication.

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. Waka Uchida, Yoshiro Kimura, Makoto Hatakeyama, Masamitsu Wakabayashi, Koji Ogata, Satoshi Yokojima, Shinichiro Nakamura A study of QM/Langevin-MD simulation for Oxygen-evolving center of photosystem II, *SolChES*, 7/23-28, 2012, Sendai.
2. Waka Uchida, Yoshiro Kimura, Yuki Taichi, Makoto Hatakeyama, Koji Ogata, Satoshi Yokojima, Shinichiro Nakamura A study of QM/Langevin-MD simulation and vibrational analysis for photosystem II in early process of photosynthesis, 生物物理学会, 9/22-24, 2012, 名古屋.
3. 緒方浩二, 畠山允, 由木太一, 打田和香, 中村振一郎, 第 50 回生物物理学会, 2012, 名古屋.
4. Ogata, K., Yuki, T., Uchida, W., Hatakeyama, M., Nakamura, S., Okayama University International Symposium, Structure and Dynamics of Photosynthetic System, 2012, Okayama, Japan.
5. 中田 浩弥, Fedorov Dmitri, 横島 智, 北浦 和夫, 中村 振一郎, 分子化学討論会 2012, 東京