

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2016～2020

課題番号：16H06560

研究課題名（和文）構造を基盤としたプロトン排出の戦略的分子設計

研究課題名（英文）Strategic Structural Study of the Proton Motive Force

研究代表者

栗栖 源嗣（KURISU, GENJI）

大阪大学・蛋白質研究所・教授

研究者番号：90294131

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 74,800,000円

研究成果の概要（和文）：構造生物学が苦手としてきたプロトンに着目し、理論化学計算とX線構造解析、NMR、クライオ電子顕微鏡とを併用することで、pHや水素原子を含めた構造研究を推し進めることができた。幾つかの対象に対しては単位分子装置のボトルネックの解消につながる光合成機能の構造要因を洗い出すことにも成功した。具体には、光化学系IIのプロトン排出経路、シトクロムb6fのpH依存的なFNRとの相互作用、NDH複合体が行うFdに依存したキノン還元反応の分子機構、そして強い還元力をもつフェレドキシンを介した制御系の構造基盤が明らかとなった。<A01><A02>の各班との共同研究においても一定の成果が得られている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生命が持つ階層構造に沿って生命秩序の形成を理解しようとした場合、低分子の認識機構についてある程度統一的理解されているが、pHに依存する蛋白質間の相互作用を含むシステムの場合には統一的理解されていなかった。本研究課題で掲げる『構造を基盤としたプロトン排出の戦略的分子設計』では、素反応がネットワークとして機能する光合成反応システムに対し、計算化学、X線結晶解析、NMR、クライオ電子顕微鏡とあらゆる構造解析手法を相補的に活用し、A01、A02の各班との共同研究を進めることで、光合成構造生物学を単純な分子素子の解析から、より高次の生体機能の理解へと遷移させる新しい研究の方向性を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：Focusing on the "Proton motive force" which has been a weak point of structural biology, we have been able to advance structural analysis including hydrogen atoms by combining theoretical chemical calculations with X-ray structural analysis, NMR, and cryo-electron microscopy. By using this approach, we were able to identify the structural basis for the photosynthetic function, and for some of them, we were able to find out the bottleneck of supramolecular complex responsible for the photosynthetic reaction. Specifically, the structural basis of the proton transport pathway of the photosystem II complex, the pH-dependent interaction of the cytochrome b6f complex with FNR, the molecular mechanism of the Fd-dependent quinone reduction of the NDH complex, and the regulatory system mediated by the strong reducing power of ferredoxin were clarified. Our collaborative research with <A01> and <A02> groups has also yielded certain results.

研究分野：構造生物学，生物物理学

キーワード：構造生物化学 生物物理学 生体エネルギー変換 光合成

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

光合成エネルギー変換を構成する光合成分子装置の結晶構造は、好熱性シアノバクテリアのタンパク質を中心に、原子分解能の結晶構造が多く報告されていた。しかし、巨大タンパク質であるが故に、構造・機能相関の議論はアミノ酸レベルの現象論にとどまっている例が多かった。

一方で、構造生物学を生体反応の改変に用いることは、小型の酵素では実績があった（食品の改質に用いられるトランスグルタミナーゼ他）。創薬研究の現場でも、情報科学、合成化学が構造生物学と連携することで、**Structure Based Drug Design (SBDD)** と呼ばれるパイプラインが成功裡に組織されていた。分子レベルでの理解が進んでいた光合成研究に、SBDD のように構造生物学研究を利用する機が熟していた。

### 2. 研究の目的

これまで構造生物学が苦手としてきた“プロトンによる制御機構”に着目し、理論化学計算とX線構造解析、NMR、クライオ電子顕微鏡とを併用することで、水素原子を含めた構造解析を推し進める。それにより、各単位装置のボトルネックの解消につながるローカルミニマムに陥っている光合成機能の構造要因を洗い出すことを目的とした。

光合成環境適応を担うタンパク質、タンパク質複合体の機能を制限している要因は、立体構造から一定程度推測することが可能である。具体に着目するのは、光化学系 II 複合体のプロトン排出経路、シトクロム *b<sub>6</sub>f* 複合体や NDH 複合体が行うキノンの酸化還元に伴うプロトン取り込みと排出、そして強い還元力をフェレドキシンに伝える還元系とその制御系である。分子化学の成立する合理的な範囲内で理論化学計算を併用して、プロトンを含んだ局所相互作用・構造を導出し、<A01><A02>の各班に結果をフィードバックして機能評価することを目的とする。

### 3. 研究の方法

研究目的を達成するために、光化学系 II についてはアンテナ系も含んだ環境適応機構を含めて齊藤・石北を中心に、光化学系 I については還元力供給系への分配調節などを含めて田中を中心に、そしてシトクロム *b<sub>6</sub>f* 複合体と NDH 複合体については各構成要素単体の評価を含めて栗栖を中心に構造解析を進めた。

理論計算では、高精度・高分解能で解析されデータベースに収録されている光化学系 II、光化学系 I 複合体を中心に高精度・高分解能で解析された PDB エントリを対象に、QM/MM 法で各光合成装置の *in silico* 構造解析を進めた。大量に精製可能なサンプルについては、X線結晶構造解析や NMR による相互作用解析、クライオ電子顕微鏡による構造解析を併用して、電子伝達経路、プロトン排出経路に着目した考察を進めた。本研究課題は<A01><A02>の各班の構造研究をサポートする役目も担っているため、専門性を生かした共同研究を積極的に進めた。

### 4. 研究成果

(1) 光環境適応機構の仕組みの一つに、フェレドキシン-チオレドキシン還元酵素 (FTR) とチオレドキシン (Trx) を介した代謝酵素の活性調整が知られている。シロイヌナズナでは 10 種類の Trx アイソフォームが、FTR による還元活性で、High, Middle, Low の 3 つの活性グループに分類される。久堀班と共同で、反応効率の高い FTR:Trx-y1 複合体の結晶構造を 1.59Å、中程度の反応効率を示す FTR:Trx-f2 複合体の結晶構造を 1.79Å、そして反応効率の低い FTR:Trx-m2 の結晶構造を 2.46Å 分解能で決定し、各複合体構造を詳細に比較検討した。3 種類の活性効率の異なる複合体の分子間相互作用に着目して解析を行なったところ、FTR と Trx の相互作用は各 Trx アイソフォームに共通なものの特異的なものの 2 種類に分類され、各 Trx アイソフォームに特有な相互作用は分子界面の縁に配置されることを見出した (*Protein Sci* 2019)。

(2) 光環境適応機構の一つに、光化学系 I 複合体 (PSI) のオリゴマー状態の制御がある。我々は、好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 由来の無損傷で完全に機能する単量体 PSI について、X線結晶構造解析による 6.0 Å 分解能の構造とクライオ電子顕微鏡による 3.2 Å 分解能の構造を決定し、既に明らかになっている 3 量体構造と比較した。その結果、単量体化に起因する構造の柔軟性とクロロフィルの損失が明らかとなり、PSI の長波長吸収クロロフィル (通称、赤色クロロフィル) を同定することに成功した。今回発見した赤色クロロフィルの分子内の相対配置から、PSI の 2 つある電子伝達鎖が非対称にはたらく構造基盤についても脂質結合部位の熱振動との関係から独自の考察を加えることに成功した (*Commun. Biol.* 2021)。

(3) 光合成電子伝達反応では、光環境によっては過剰な電子が生産されることがあるため、チラコイド膜の回路に電子を回収し再利用する NADH 脱水素酵素様複合体 (NDH1) の存在が知られていた。しかし、NDH1 が電子を回収・再利用する詳細な仕組みは不明であった。我々は NDH1 の精製方法を改良することで、均質な膜蛋白質複合体を得ることに成功し、クライオ電子顕微鏡

法により複合体蛋白質の構造を原子分解能で解析した (図 1)。また, Fd が結合すると考えられる NdhS と呼ばれるサブユニットを組換え体として調製し, Fd が NdhS 領域とどのように結合するのかを X 線と NMR を用いて解析した。NDH1 は NdhS の C 末端にあるフレキシブルな領域を使い, フライフィッシングの要領で Fd を捕まえて電子を回収していることを突き止めた。これにより世界で初めて Fd が NDH1 の電子供給元であることを実証した (*Science* 2019)。

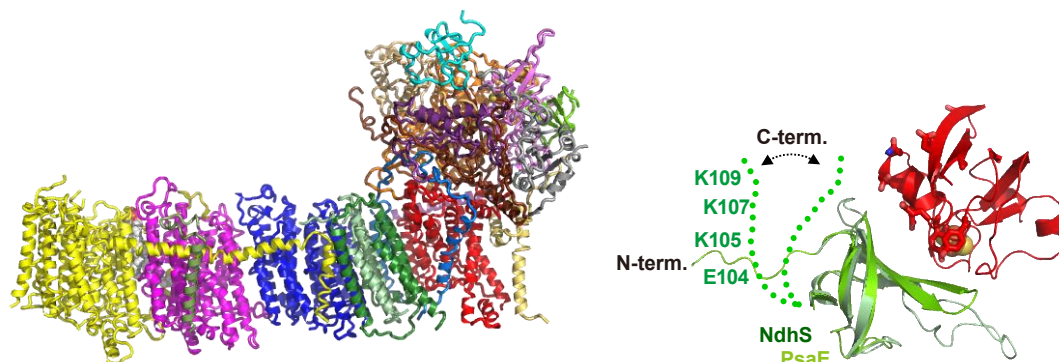


図 1. NDH1 のクライオ電顕構造 (左) と X 線構造と NMR を用いて明らかにした Fd との複合体形成様式 (右)

(4) 光合成生物は急激な光環境の変化や強い光照射で有害な活性酸素種が発生しやすい。多様で変化に富んだ地球上の光環境に対応するため, 光合成生物は酸化ストレスを減らすよう光環境適応機構を発達させてきた。強光適応に重要な役割を果たすカルレドキシニン (Crx) は, 強過ぎる光が降り注ぐストレス環境下で, 抗酸化蛋白質ペルオキレドキシニン (Prx1) と一緒に抗酸化反応を進めることが分かっている。我々は, カルシウムイオンを結合した時だけ酸化還元活性を発揮する構造基盤を明らかにするため, カルシウム結合に伴う Crx の構造変化を X 線小角散乱法と NMR 分光法により検討した。また, 抗酸化蛋白質 Prx1 の X 線結晶構造解析も行い, Crx と Prx1 との分子間相互作用の様式も明らかにした (*J.Biol.Chem.*, 2020)。

(5) 光化学系 II (PSII) 蛋白質内では,  $Mn_4CaO_5$  錯体が水分解・酸素発生反応 ( $2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$ ) を触媒している。この反応は  $Mn_4CaO_5$  錯体の酸化状態の変化 (Kok サイクル;  $S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_0$ ) に伴って進行する。 $S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_0$  の反応機構に関し,  $Mn_4CaO_5$  錯体に配位する水分子 W1 と錯体中の O4 (図 2) が結合して酸素分子となる機構を提案した (*Nat. Commun.*, 2018)。そこでは W1 の脱プロトン化反応が鍵となる。そこで W1 から放出されるプロトン移動に関与すると予測される複数のアミノ酸残基の影響を調べた。<A01-2>班により, それらのアミノ酸に対して 19 種類すべての変異体をもつクラミドモナスが作成され, その実験と分子動力学計算と量子化学/分子力学法による理論解析の結果を組み合わせて以下のプロトン放出機構を明らかにした (図 2): 1) D1-Asp61 はプロトンを脱着しプロトン移動を仲介している。これは, Glu, Cys 変異体を持つクラミドモナスだけに独立栄養下での成長がみられたという実験結果と合致する。2)  $S_2 \rightarrow S_3$  遷移では D1-Glu65 がプロトン放出を促進する一方, D2-Glu312 と D1-Arg334 は副次的なプロトン移動経路に関与している可能性がある (*Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)*, 2021)。

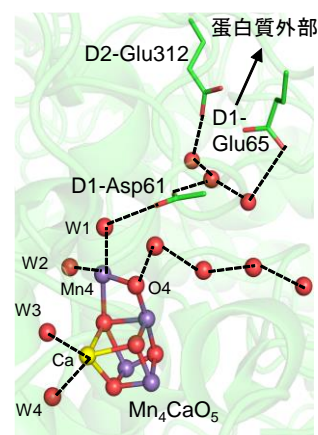


図 2.  $Mn_4CaO_5$  錯体の構造と配位水 W1 からのプロトン放出にかかわるアミノ酸

(6) PSII 蛋白質の  $Mn_4CaO_5$  錯体は, 光エネルギーにより酸化される。この際,  $Mn_4CaO_5$  錯体上の電子は, 近くの D1-Tyr161 アミノ酸残基をとおり,  $P_{D1}/P_{D2}$  クロロフィル二量体へと移動する (図 3)。電子が定められた方向に正しく移動するのは,  $Mn_4CaO_5$  錯体, D1-Tyr161,  $P_{D1}/P_{D2}$  クロロフィル二量体の酸化還元電位が, まわりの蛋白質環境によりこの順番に高くなるように制御されているからである。しかし,  $Mn_4CaO_5$  錯体の酸化還元電位が実際にはどのような値なのか, どのような機構で適切に調整されているのかは不明であった。我々は, 量子化学/分子力学法により軌道エネルギーを計算し, そこから酸化還元電位を算出した。その結果,  $Mn_4CaO_5$  錯体の  $S_0 \rightarrow S_1$  遷移における酸化還元電位 (730 mV) は  $S_1 \rightarrow S_2$  遷移における酸化還元電

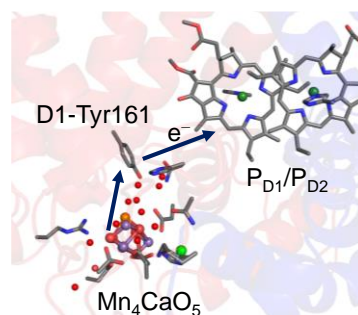


図 3.  $Mn_4CaO_5$  錯体からの電子移動経路

位 (826 mV) よりも小さいことがわかった。同時に、この電位差を生み出しているのは  $S_0 \rightarrow S_1$  遷移と同時に起こるプロトン移動経路を構成する水が作る分極の違いであることが明らかになった (*J. Phys. Chem. Lett.*, 2020)。

(7) 紅色光合成細菌の反応中心 (PbRC) は PSII と共通の祖先を持つ。そのため、両者の反応中心の色素配置はよく似ており、対称的な2つ電子移動経路のうち、片側の経路のみが使われる点も共通している。我々は、PSII 反応中心と PbRC で起こる初期電荷分離の反応機構と量子化学的手法で解析し、両者を比較した。その結果、PbRC では中心クロロフィル二量体が励起されて電荷分離が起こるが、PSII では中心クロロフィル二量体の静電的環境が特殊なため、中心クロロフィル二量体ではなくその隣の「アクセサリクロロフィル」から電荷分離が起こることが明らかになった (*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2020)。また、光化学系 I (PSI) の反応中心の電荷分離機構についても調べた。その結果、PSI は PSII とともに PbRC と異なり、中心クロロフィル二量体を構成するクロロフィル *a* のひとつが立体異性化 (クロロフィル *a'*) していることが、電子移動の方向を決めていることがわかった (*J. Phys. Chem. B*, 2021)。

(8) 光合成蛋白質内での反応を構成するのは、1)電子移動、2)プロトン移動、3)光吸収・エネルギー移動である。これらを蛋白質構造から理論的に解析する手法についてそれぞれ研究した。1)電子移動の方向を決める酸化還元電位は、Mn を含む錯体 (図 4) においても最高占有分子軌道 (highest occupied molecular orbital; HOMO) のエネルギー準位と相関があるので、この値から量子化学計算により同定できることを示した (*Photosynth. Res.*, 2021)。2)プロトン移動の方向は酸解離定数  $pK_a$  によって決定される。金属に配位した水分子の  $pK_a$  を量子化学計算により同定する手法を開発し、PSII の  $Mn_4CaO_5$  錯体の配位水に適用した。その結果、 $Mn_4CaO_5$  錯体の Mn4 に配位した W1 の  $pK_a$  が近くの D1-Asp61 との相互作用により特異的に小さくなり (図 2)、プロトン放出を可能にしていることがわかった (*Commun. Chem.*, 2021)。3) PSII や PSI で光吸収を行っているクロロフィル *a* 色素について、蛋白質内で吸収エネルギーが変化する機構を明らかにした。その結果を用いて PSII 反応中心にある低エネルギーの吸収帯を持つ特別なクロロフィル *a* (Chl<sub>D1</sub>) を解析し、周囲の極性アミノ酸側鎖、水分子、塩化物イオンがその吸収帯を低エネルギーシフトさせていることを明らかにした (図 5) (*J. Photochem. Photobiol. A*, 2020)。

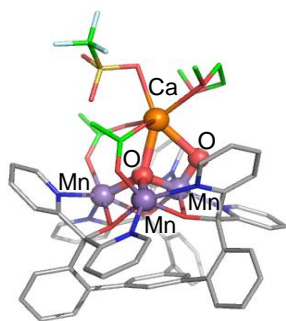


図 4. Mn を含む錯体の例 ( $Mn_3CaO_2$ )

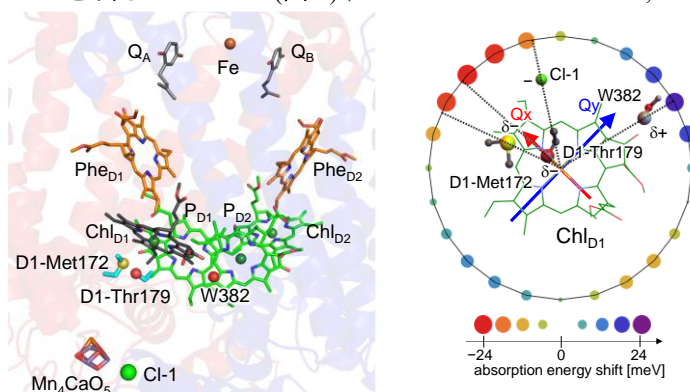


図 5. (左) PSII における Chl<sub>D1</sub> とその周辺環境。(右) Chl<sub>D1</sub> の光吸収が長波長シフトする原因は、Qx, Qy 方向に分極したアミノ酸やイオン、水分子が存在するため。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計36件（うち査読付論文 34件 / うち国際共著 11件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yamamoto Haruki, Mizoguchi Tadashi, Tsukatani Yusuke, Tamiaki Hitoshi, Kurisu Genji, Fujita Yuichi	4. 巻 -
2. 論文標題 Chlorophyllide a oxidoreductase preferentially catalyzes 8 vinyl reduction over B ring reduction of 8 vinyl chlorophyllide a in late steps of bacteriochlorophyll biosynthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.201900785	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ohnishi Yusuke, Muraki Norifumi, Kiyota Daiki, Okumura Hideo, Baba Seiki, Kawano Yoshiaki, Kumasaka Takashi, Tanaka Hideaki, Kurisu Genji	4. 巻 -
2. 論文標題 X-ray dose-dependent structural changes of the [2Fe-2S] ferredoxin from Chlamydomonas reinhardtii	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Schuller Jan M., Saura Patricia, Thiemann Jacqueline, Schuller Sandra K., Gamiz-Hernandez Ana P., Kurisu Genji, Nowaczyk Marc M., Kaila Ville R. I.	4. 巻 11
2. 論文標題 Redox-coupled proton pumping drives carbon concentration in the photosynthetic complex I	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-14347-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kojima Keiichi, Ueta Tetsuya, Noji Tomoyasu, Saito Keisuke, Kanehara Kanae, Yoshizawa Susumu, Ishikita Hiroshi, Sudo Yuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Vectorial Proton Transport Mechanism of RxR, a Phylogenetically Distinct and Thermally Stable Microbial Rhodopsin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-57122-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mandal Manoj, Kawashima Keisuke, Saito Keisuke, Ishikita Hiroshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Redox Potential of the Oxygen-Evolving Complex in the Electron Transfer Cascade of Photosystem II	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 249 ~ 255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.9b02831	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Seo Daisuke, Muraki Norifumi, Kurisu Genji	4. 巻 1861
2. 論文標題 Kinetic and structural insight into a role of the re-face Tyr328 residue of the homodimer type ferredoxin-NADP+ oxidoreductase from Rhodospseudomonas palustris in the reaction with NADP+/NADPH	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics	6. 最初と最後の頁 148140 ~ 148140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbabi.2019.148140	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito Keisuke, Ishikita Hiroshi	4. 巻 1860
2. 論文標題 Mechanism of protonation of the over-reduced Mn4CaO5 cluster in photosystem II	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics	6. 最初と最後の頁 148059 ~ 148059
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbabi.2019.148059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Charoenwattanasatien Ratana, Zinzius Karen, Scholz Martin, Wicke Susann, Tanaka Hideaki, Brandenburg Johann S., Marchetti Giulia M., Ikegami Takahisa, Matsumoto Takashi, Oda Takashi, Sato Mamoru, Hippler Michael, Kurisu Genji	4. 巻 295
2. 論文標題 Calcium sensing via EF-hand 4 enables thioredoxin activity in the sensor-responder protein calredoxin in the green alga Chlamydomonas reinhardtii	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 170 ~ 180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008735	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sugiura Kazunori, Tanaka Hideaki, Kurisu Genji, Wakabayashi Ken-ichi, Hisabori Toru	4. 巻 1863
2. 論文標題 Multicolor redox sensor proteins can visualize redox changes in various compartments of the living cell	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 1098 ~ 1107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2019.01.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Grabsztunowicz Magda, Mulo Paula, Baymann Frauke, Mutoh Risa, Kurisu Genji, Setif Pierre, Beyer Peter, Krieger Liszkay Anja	4. 巻 99
2. 論文標題 Electron transport pathways in isolated chromoplasts from Narcissus pseudonarcissus L.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 245 ~ 256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.14319	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Schuller Jan M., Birrell James A., Tanaka Hideaki, Konuma Tsuyoshi, Wulfhorst Hannes, Cox Nicholas, Schuller Sandra K., Thiemann Jacqueline, Lubitz Wolfgang, Setif Pierre, Ikegami Takahisa, Engel Benjamin D., Kurisu Genji, Nowaczyk Marc M.	4. 巻 363
2. 論文標題 Structural adaptations of photosynthetic complex I enable ferredoxin-dependent electron transfer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 257 ~ 260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aau3613	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kubota-Kawai Hisako, Mutoh Risa, Shinmura Kanako, Setif Pierre, Nowaczyk Marc M., Roegner Matthias, Ikegami Takahisa, Tanaka Hideaki, Kurisu Genji	4. 巻 4
2. 論文標題 X-ray structure of an asymmetrical trimeric ferredoxin?photosystem I complex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 218 ~ 224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41477-018-0130-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Charoenwattanasatien Ratana, Tanaka Hideaki, Zinzus Karen, Hochmal Ana K., Mutoh Risa, Yamamoto Daisuke, Hippler Michael, Kurisu Genji	4. 巻 74
2. 論文標題 X-ray crystallographic and high-speed AFM studies of peroxiredoxin 1 from Chlamydomonas reinhardtii	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Crystallographica Section F Structural Biology Communications	6. 最初と最後の頁 86 ~ 91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S2053230X17018507	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawashima Keisuke, Saito Keisuke, Ishikita Hiroshi	4. 巻 57
2. 論文標題 Mechanism of Radical Formation in the H-Bond Network of D1-Asn298 in Photosystem II	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 4997 ~ 5004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.8b00574	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Saga Yoshitaka, Hirota Keiya, Matsui Sayaka, Asakawa Hitoshi, Ishikita Hiroshi, Saito Keisuke	4. 巻 57
2. 論文標題 Selective Removal of B800 Bacteriochlorophyll a from Light-Harvesting Complex 2 of the Purple Photosynthetic Bacterium Phaeospirillum molischianum	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 3075 ~ 3083
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.8b00259	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawashima Keisuke, Ishikita Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Energetic insights into two electron transfer pathways in light-driven energy-converting enzymes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 4083 ~ 4092
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8sc00424b	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Kawashima Keisuke, Takaoka Tomohiro, Kimura Hiroki, Saito Keisuke, Ishikita Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 O <sub>2</sub> evolution and recovery of the water-oxidizing enzyme	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-03545-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saito Keisuke, Suzuki Takumi, Ishikita Hiroshi	4. 巻 358
2. 論文標題 Absorption-energy calculations of chlorophyll a and b with an explicit solvent model	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry	6. 最初と最後の頁 422 ~ 431
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotochem.2017.10.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Setif P, Mutoh R, Kurisu G	4. 巻 1858
2. 論文標題 Dynamics and energetics of cyanobacterial photosystem I:ferredoxin complexes in different redox states.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochim Biophys Acta.	6. 最初と最後の頁 483-496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbabi.2017.04.001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Mosebach L, Heilmann C, Mutoh R, Gabelein P, Steinbeck J, Happe T, Ikegami T, Hanke G, Kurisu G, Hippler M.	4. 巻 134
2. 論文標題 Association of Ferredoxin:NADP+ oxidoreductase with the photosynthetic apparatus modulates electron transfer in Chlamydomonas reinhardtii.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Photosynth Res.	6. 最初と最後の頁 291-306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11120-017-0408-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Charoenwattanasatien R, Tanaka H, Zinzius K, Hochmal AK, Mutoh R, Yamamoto D, Hippler M, Kurisu G.	4. 巻 74
2. 論文標題 X-ray crystallographic and high-speed AFM studies of peroxiredoxin 1 from <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> .	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Crystallogr F Struct Biol Commun.	6. 最初と最後の頁 86-91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S2053230X17018507	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 K. Kawashima H. Ishikita	4. 巻 56
2. 論文標題 Structural factors that alter the redox potential of quinones in cyanobacterial and plant photosystem I	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 3019-3028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.7b00082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 N. Sakashita, H. C. Watanabe, T. Ikeda, K. Saito, H. Ishikita	4. 巻 56
2. 論文標題 Origins of Water Molecules in the Photosystem II Crystal Structure.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 3049-3057
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.7b00220	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Ikeda, K. Saito, R. Hasegawa, H. Ishikita	4. 巻 56
2. 論文標題 Existence of isolated H3O <sup>+</sup> in the protein interior,	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed. Engl.	6. 最初と最後の頁 9151-9154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201705512.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. C. Watanabe, M. Kubillus, T. Kubar, R. Stach, B. Mizaiakoff, H. Ishikita	4. 巻 19
2. 論文標題 Cation solvation with quantum chemical effects modeled by size-consistent multi-partitioning quantum mechanics/molecular mechanics method,	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Phys. Chem. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 17985-17997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C7CP01708A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kishi, K. Saito, Y. Kato, H. Ishikita	4. 巻 134
2. 論文標題 Redox potentials of ubiquinone, menaquinone, phyloquinone, and plastoquinone in aqueous solution	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Photosynth. Res	6. 最初と最後の頁 193-200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11120-017-0433-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. C. Watanabe, Y. Yamashita, and H. Ishikita	4. 巻 114
2. 論文標題 Molecular dynamics simulations do not provide functionally relevant values of redox potential in MtrF	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.	6. 最初と最後の頁 E10029-E10030
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1717048114	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Saito, T. Suzuki, H. Ishikita	4. 巻 358
2. 論文標題 Absorption-energy calculations of chlorophyll a and b with an explicit solvent model	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Photochem. Photobiol. A	6. 最初と最後の頁 422-431
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 K. Kawashima, T. Takaoka, H. Kimura, K. Saito, H. Ishikita	4. 巻 9
2. 論文標題 O2 evolution and recovery of the water-oxidizing enzyme	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 1247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-03545-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Kawashima, H. Ishikita	4. 巻 9
2. 論文標題 Energetic insights into two electron transfer pathways in light-driven energy-converting enzymes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chem. Sci.	6. 最初と最後の頁 4083-4092
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8SC00424B	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kinoshita M, Kim JY, Kume S, Lin Y, Hun Mok K, Kataoka Y, Ishimori K, Markova N, Kurisu G, Hase T, Lee YH.	4. 巻 482
2. 論文標題 Energetic basis on interactions between ferredoxin and ferredoxin NADP+ reductase at varying physiological conditions	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 909-915
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2016.11.132.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hochmal, A.K., Zinzius, K., Charoenwattanasatien, R., Gabelein, P., Mutoh, R., Tanaka, H., Schulze, S., Liu, G., Scholz, M., Nordhues, A., Offenborn, J.N., Petroutsos, D., Finazzi, G., Fufezan, C., Huang, K., Kurisu, G. Hippler, M.	4. 巻 7
2. 論文標題 Calredoxin represents a novel type of calcium-dependent sensor-responder connected to redox regulation in the chloroplast.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Nature Commun.	6. 最初と最後の頁 11847
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncomms11847	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 1.Kim, J.-Y., Kinoshita, M., Kume, S., Hanke, G.T., Sugiki, T., Ladbury, J.E., Kojima, C., Ikegami, T., Kurisu, G., Goto, Y., Hase, T. and Lee, Y.-H.	4. 巻 473
2. 論文標題 Non-covalent forces tune the electron transfer complex between ferredoxin and sulfite reductase to optimize enzymatic activity	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biochemical Journal	6. 最初と最後の頁 3837-3854
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20160658	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 R. Hasegawa, K. Saito, T. Takaoka, H. Ishikita	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 pKa of ubiquinone, menaquinone, phylloquinone, plastoquinone, and rhodoquinone in aqueous solution	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Photosynth. Res.	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11120-017-0382-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 N. Sakashita, H. C. Watanabe, T. Ikeda, and H. Ishikita	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Structurally conserved channels in cyanobacterial and plant photosystem II	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Photosynth. Res.	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11120-017-0347-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 斉藤圭亮	4. 巻 330
2. 論文標題 光合成水分分解反応におけるプロトン移動	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 098-100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計30件（うち招待講演 16件 / うち国際学会 13件）

1. 発表者名 栗栖源嗣
2. 発表標題 電子伝達タンパク質フェレドキシンと膜タンパク質との相互作用様式
3. 学会等名 2019年度日本生化学会九州支部例会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kurusu, Genji
2. 発表標題 Updated X-ray structure of the Type-I Reaction Center from <i>Heliobacterium modesticaldum</i> at 2.28 Å resolution
3. 学会等名 Gordon Research Conference（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗栖源嗣
2. 発表標題 光合成複合体Iがフェレドキシン依存性を示す構造基盤
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kurusu, Genji
2. 発表標題 Structural basis for the ferredoxin-dependency of NADH dehydrogenase-like complex I
3. 学会等名 16th Conference of the Asian Crystallographic Association（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Gerle, Christoph
2. 発表標題 In and out of the membrane: cryo-EM of membrane proteins
3. 学会等名 16th Conference of the Asian Crystallographic Association (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗栖源嗣
2. 発表標題 光合成複合体 I がフェレドキシン依存性を示す構造基盤
3. 学会等名 日本光合成学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗栖源嗣
2. 発表標題 Structural atlas of Ferredoxin-dependent proteins in the Protein data Bank
3. 学会等名 RUB Japan Science Days, Ruhr University Bochum, (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 栗栖源嗣
2. 発表標題 X-ray and NMR studies of the complex between Ferredoxin and Photosystem I
3. 学会等名 20th European Bioenergetics Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 栗栖源嗣
2. 発表標題 Structural atlas of the electron transfer complexes of ferredoxin and its partner protein
3. 学会等名 International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Biogenesis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tanaka, H
2. 発表標題 X-ray Structure and NMR analysis of the electron transfer complex between Ferredoxin and Photosystem I
3. 学会等名 2nd Molecular and Cellular Life Sciences (MCLS), Surabaya (Indonesia) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kurusu, G
2. 発表標題 X-Ray Structure of the Type-1 Reaction Center from Helicobacterium modesticaldum at 3.2 Å
3. 学会等名 Gordon Research Conference, ME(USA) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tanaka H, Kubota-Kawai H, Mutoh R, Shinmura K, Setif P, Nowaczyk M, Roegner M, Ikegami T, Kurisu G
2. 発表標題 X-ray structure and NMR analysis of the electron transfer complex between Photosystem I and Ferredoxin
3. 学会等名 The 55th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 田中秀明、河合寿子、武藤梨沙、ピエール セティフ、ノヴァチク マーク、レグナー マティアス、栗栖源嗣
2. 発表標題 光化学系I-フェレドキシン電子伝達複合体のX線構造およびNMR解析
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroyuki Tsukuno, Risa Mutoh, Hiroki Nagashima, Yasuhiro Kobori, Genji Kurisu, Hirozo Oh-oka
2. 発表標題 ヘリオバクテリア反応中心の初期電荷分離スピン相関解析ラジカル対の捕捉
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三野 広幸, 佃野 弘幸, 武藤 理沙, 長嶋 宏樹, 小堀 康博, 栗栖 源嗣, 大岡 宏造
2. 発表標題 時間分解EPRでとらえる光合成反応中心初期電荷分離の制御機構
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大西裕介、田中秀明、奥村英夫、馬場清喜、河野能顕、熊坂崇、栗栖源嗣
2. 発表標題 酸化型フェレドキシン結晶の X 線回折実験における還元損傷の確認と評価
3. 学会等名 平成29年度日本結晶学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊勢茜, 大西裕介, Kim Yu Jaen, 田中秀明, 栗栖源嗣
2. 発表標題 根型フェレドキシン- +レドクターゼ結晶 線結晶構 解析
3. 学会等名 第31回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大西 裕介, 田中 秀明, 奥 村 英夫, 馬場 清喜, 河野 能顕, 熊坂 崇, 栗栖源嗣
2. 発表標題 酸化型フェレドキシンの精密な結晶構造解析に向けた、X 線損傷 の分光学的評価
3. 学会等名 日本化学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Ishikita
2. 発表標題 Electron transfer and proton transfer in proteins
3. 学会等名 Frontier Forum on Nanoscience, Dubrovnik, Croatia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石北 央
2. 発表標題 電子伝達蛋白質が見つないだもの
3. 学会等名 2017年 バイオ工学シンポジウム、大和屋本店、松山市 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 斉藤圭亮
2. 発表標題 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
3. 学会等名 平成29年度ラン藻ゲノム交流会, 東京大学 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Ishikita
2. 発表標題 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
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会、熊本大学 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Keisuke Saito
2. 発表標題 Theoretical investigation based on molecular structures reveals reaction mechanisms in photosynthetic membrane proteins
3. 学会等名 第55回生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 斉藤圭亮
2. 発表標題 光合成蛋白質内の水分子のシミュレーション
3. 学会等名 第5回JCAHPCセミナー、東京大学 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Ishikita
2. 発表標題 Proton release, O <sub>2</sub> evolution, water incorporation, and recovery of the water-oxidizing enzyme
3. 学会等名 5th International Workshop on Solar Energy for Sustainability, Nanyang Technological University, Singapore (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田伏菜美、杉浦一徳、久堀徹、森田潤司、田中秀明、栗栖源嗣
2. 発表標題 酸化還元応答蛍光タンパク質Re-QyのX線結晶構造解析
3. 学会等名 第30回日本放射光学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 H. Ishikita
2. 発表標題 Water-splitting enzyme photosystem II, a model for artificial photosynthesis
3. 学会等名 UK-Japanese Frontiers of Science Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 斉藤圭亮
2. 発表標題 蛋白質の理論化学解析で光合成反応をする
3. 学会等名 化学系学協会東北大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 斉藤圭亮
2. 発表標題 構造に基づく理論解析で蛋白質の分子機構を探る
3. 学会等名 第10回日本化学会東海支部若手研究者フォーラム
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 H. Tanaka, H. Kubota-Kawai, R. Mutoh, K. Shinmura, P. Setif, M. Nowaczyk, M. Roegner, T. Ikegami, G. Kurisu
2. 発表標題 X-ray Structure and NMR Analysis of the Electron Transfer Complex between Photosystem I and Ferredoxin
3. 学会等名 14th Conference of the Asian Crystallographic Association (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kurisu, G.	4. 発行年 2016年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 253-264
3. 書名 Structural Perspective of Ferredoxin NAD(P)H Reductase Reactions with Cytochrome bf Complexes. In Cytochrome Complexes: Evolution, Structures, Energy Transduction, and Signaling	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>蛋白質結晶学研究室ホームページ  <a href="http://www.protein.osaka-u.ac.jp/crystallography/">http://www.protein.osaka-u.ac.jp/crystallography/</a></p>
---

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	斉藤 圭亮  (SAITOH KEISUKE)  (20514516)	東京大学・先端科学技術研究センター・准教授    (12601)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連 携 研 究 者	田中 秀明  (TANAKA HIDEAKI)  (40346169)	大阪大学・たんぱく質研究所・准教授    (14401)	X線と電子顕微鏡構造解析
連 携 研 究 者	石北 央  (ISHIKITA HIROSHI)  (00508111)	東京大学・先端科学技術研究センター・教授    (12601)	理論計算による構造解析

## 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

## 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ドイツ	Ruhr University Bochum	Max Planck Institute of Biochemistry		
英国	Queen Mary University of London			
米国	Purdue University			
ドイツ	University of Muenster			
ドイツ	Ruhr University Bochum			