

氏名	みや した おさむ 宮 下 治
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第2266号
学位授与の日付	平成12年11月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科化学専攻
学位論文題目	ROLE OF CONFORMATIONAL DYNAMICS ON ELECTRON AND ENERGY TRANSFER IN A PROTEIN MOLECULE (タンパク質内電子移動反応およびエネルギー移動におけるタンパク質構造 ダイナミクスの役割)
論文調査委員	(主査) 教授 郷 信広 教授 加藤重樹 教授 丸岡啓二

論文内容の要旨

タンパク質が媒介する電子の移動は、光合成系やミトコンドリアの呼吸鎖で見られ、生体機能を実現するための最も重要な物理過程の一つである。それらの電子移動反応機構の理解を目的として様々な実験や理論的研究が行われている。電子移動反応理論の重要な基礎理論であるマーカス理論によれば、電子移動反応速度は2つの確率の積で表される。一つは、原子核の位置が熱揺らぎで電子が移動できる活性化状態の構造になる確率(活性化因子)である。この確率は、原子核がどのように熱平衡状態で揺らいでいるかによって決まり、古典的な統計力学により理解できる。第二の確率は、活性化状態になったときに実際に電子が遷移移動する確率であり、電子の移動経路で決まる。この因子は量子力学的に理解することができ、結合定数と呼ばれる。

まず、タンパク質電子移動反応の圧力依存性について議論する。電子移動の機構を理解するための新しい情報を得るために、近年、温度に加え、反応速度の圧力依存性を調べることが行われてきている。しかし、移動反応速度の圧力依存性はタンパク質の種類などによって大きく変化し、そのような実験結果の解釈は今まで場当たりの、圧力依存性の体系的理解からは程遠かった。本研究は、第一にタンパク質電子移動反応の圧力依存性を理解するための、理論的な枠組みを構築し、第二に計算機シミュレーションの結果を用いて重要なパラメータに対する定量的な情報を得た結果、様々な電子移動反応の圧力依存性を貫して解釈することを可能にした。得られた枠組みは、実験結果の解釈に使われている。

上に述べたように、電子移動反応速度の大小を決める要素は二つある。つまり、活性化因子及び、結合定数である。二つの確率因子それぞれへの圧力の影響を理論的に調べ、シミュレーションによる定量的な情報も加えて比較検討する必要がある。

まず、結合定数は電子供与体、受容体間の移動経路の構造によって決まる。圧力によって電子移動タンパク質の構造が変化すると、結合定数も変化することになる。移動経路モデルを用いることで、経路上の水素結合距離の変化が結合定数に与える影響を明らかにした。そして、このような効果が実際のタンパク質でどの程度起こるのかを見るために、圧力による構造変化のシミュレーションを行った結果、実際に水素結合がある程度伸縮することが確かめられ、それに伴う反応速度の上昇を数量的に見積もることができた。結果として、このような圧力による影響は確かに存在するけれども、かなり小さな効果であるという結論を得た。

また、活性化因子については、既存の理論を拡張し、圧力の効果を入れた電子移動反応の理論を作り上げた。マーカス理論によれば活性化因子は「反応自由エネルギー ΔG 」と、「再配向エネルギー λ 」とによって与えられるが、これら二つのエネルギー量の圧力依存性がそれぞれ二次及び三次の揺らぎであり、再配向エネルギーの圧力変化は無視できるという結論を得た。その結果、活性化因子の圧力依存性と反応体積との間の明快な関係を定式化することができた。

これらの結果から、移動反応速度の圧力依存性に関する全体的な枠組みを得て、様々な実験結果の再解釈を行い、より統一的に現象を理解するための実験の提案をいくつか行った。

次に、電子移動反応理論において重要な量である再配向エネルギー λ についての研究を行った。再配向エネルギー λ は Δe (核位置を固定して電子を移動したときのエネルギー差)の揺らぎとして表される。これをタンパク質の立体構造に基づいて理解するために、エネルギー差 Δe をタンパク質の全体的な動きと関係がある部分や、ヘムの周りの運動と関係のある部分、配位している金属の周りの運動と関係する部分、水の運動と関係のある部分、等々に分ける。これらの各成分の分散共分散行列を求めることで、 λ 全体への各成分の寄与を比較することができる。H. Grayが系統的な実験を行ったRu(NH₃)₅(His33)cytochrome-c系についてのシミュレーションを行った結果からは、水からや電子受容基(この系ではRu(NH₃)₅)の構造揺らぎの λ に対する影響が大きいことがわかった。また、再配向エネルギー λ を水からの寄与とタンパク質からの寄与に分割する事は、それぞれからの寄与に強い相関があることから明確には定義できない事が明らかになった。

論文審査の結果の要旨

本論文では、主に、タンパク質内で起こる電子移動反応が議論されている。タンパク質による電子移動反応は、光合成反応中心や呼吸鎖などでみられるように生命現象に非常に大きな役割を持っている。したがって、その反応機構を、構造生物学的な観点と合わせて物理化学的に理解することは、重要なテーマである。

第一に、著者はタンパク質の電子移動反応の圧力依存性に関する議論を行っている。電子移動反応速度の圧力依存性については近年実験が盛んに行われており、温度依存性に変わる新しい情報が得られている。しかし、得られた依存性はタンパク質の種類等によって複雑に変化し、これまで行われてきた実験の解釈は場当たりの、現象が十分理解されているとはいえなかった。本論文で著者により提示された理論的枠組みは、これらの移動反応速度の圧力依存性を総合的に理解する事を初めて可能にした。

この中で著者は、結合定数に関する理論モデルを用い、タンパク質の圧力による構造変化が結合定数の変化を引き起こす可能性を示した。さらに、実際に圧力の影響によりタンパク質の構造がどの程度変形するかを、計算機シミュレーションを行うことで見積り、得られた情報から圧力の結合定数への影響の度合いを定量的に調べている。結論として著者は、結合定数は圧力により変化するけれども、その度合いは小さいことを示した。また、ここで得られたタンパク質構造変化が結合定数の変化を引き起こすという結論は、現在基礎となっている電子移動反応理論に対して大きな問題提起をしている。

筆者は、活性化因子の圧力依存性について、物理化学理論を元にして考察している。解析に寄れば、反応自由エネルギーと再配向エネルギーの圧力依存性はそれぞれ二次及び三次の揺らぎで表され、よって再配向エネルギーの圧力依存性は無視するという結論を得ている。この結果は重要なものであり、活性化因子の圧力依存性と反応体積との間の非常に明かな関係を定式的に導く。

これらの結果を総合して得られる反応速度の圧力依存性の理論的枠組みは、タンパク質電子移動反応の現象の理解、実験結果の解釈に非常に有用であり、大きく評価できる。また、論文中で筆者が提案している実験を行うことにより、より電子移動反応気候の理解が深まり、結果、この分野の発展に大きく寄与するものと思われる。

第二に著者は、電子移動反応の理解のために重要な再配向エネルギーをタンパク質の構造に基づいて理解するための理論的な定式化を行っている。この新しい理論は、タンパク質の立体構造に基づいて再配向エネルギーを理解するという点で、エネルギーにしか着目してこなかった従来の理論とは一線を画するものである。この点が、タンパク質電子移動の研究として本質的な発展であり評価できる。さらに筆者は、計算機シミュレーションによる結果から具体的な定量的描像を得ている。また、この中で行われた再配向エネルギーの分割可能性に関する議論はこの分野の研究にとって大きな知見を与えている。

以上のように本論文は、タンパク質電子伝達反応を議論する理論的枠組みを明らかにしたものである。しっかりとした量子理論・統計力学理論と、計算機シミュレーションを行うことによって得られる定量的情報とに基づき議論は行われている。また、得られている結果が、理論のための理論ではなく、実験的に有用である理論である点は大きく評価すべきである。

本審査は、著者が大学院在学5年未満である点を考慮し、化学専攻における予備審査には通常化学専攻所属の教官6人に加えて、工学研究科の森島績教授にも参加いただき慎重に審査した。

その結果上記の評価に基づき、著者は大学院在学が5年未満ではあるが、例外的に博士(理学)の学位を授与するに十分であると判断した。なお、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。