

【序】 視物質ロドプシン(Rh)やプロトンポンプの機能を有するバクテリオロドプシン(bR)に代表されるレチナルタンパク質は、色素レチナル(Fig. 1)の光異性化により機能が開始される光受容膜タンパク質である。これらはいずれも同様の色素を有しながら、周辺タンパク質(オプシン)の影響で吸収波長が大きく変化することが知られている。この機構を解明するため

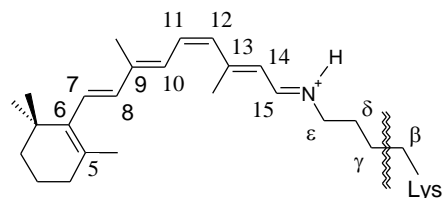


Fig. 1. Retinal structure.

に多くの研究がなされてきた。様々な理論的研究によってもこれまで実験の吸収ピークの系統的な再現には至っていない。これについて、次の4つの理由が考えられる。i) 定量的電子相関理論を用いた励起状態の計算を行うにはレチナルの分子サイズが大き過ぎるため、本来のレチナル構造とは異なる粗悪な計算モデルを使わざるを得なかったこと、ii) タンパク質中での構造最適化が困難なことから、励起状態の計算にX線構造がそのまま用いられてきたこと、iii) 構造最適化における計算方法(QM領域)の問題によって、得られたレチナル  $\pi$  鎖の結合交替が強くなり過ぎていたこと、iv) オプシンの影響は点電荷による静電相互作用しか含めていなかったため、レチナルと対アミノ酸の間の量子的相互作用の影響が考慮されていなかったこと。まず i) と ii) の項目に対し、QM/MM 法を用いることでタンパク質中の構造最適化に成功し、さらに、励起状態の計算において大きな系にも適用可能な SAC-CI 法を用いることで、レチナル色素を本来の構造のまま扱うことに成功した[1]。iii) に対し、レチナル  $\pi$  鎖の構造を記述するためには動的電子相関が重要であることを明らかにし、DFT(B3LYP)を用いることでその問題を解決した[2]。さらに iv) に対してはレチナルの対イオンも量子力学的に扱うことで、点電荷近似では表現できない水素結合などの効果を取り込むことに成功した[2]。以前の研究では、これら4つの項目に基づいて、4種のレチナルタンパク質(ロドプシン, Rh; バクテリオロドプシン, bR; センサリーロドプシン II, sRII; ヒトの青色視物質, HB)に関する Color-tuning 機構の起源を考察した[2,3]。本研究では、この適用範囲を他の錐体視物質であるヒトの赤色(HR)と緑色(HG)にも広げ、その Color-tuning 機構の起源を考察した[4]。

【結果】 錐体視物質の X 線構造は未解明のままであるため、本研究では Homology-Modeling [5]を研究の出発点とした。レチナルタンパク質は共通に 7 回膜貫通型の構造を有することと、鋳型となる Rh に対する錐体視物質(HB, HG, HR)のアミノ酸配列が高い相同性(41, 38, 37%)を示すことを考慮すると、このモデルの採用は妥当だと考えられる。これらの構造を用いて QM/MM(B3LYP/AMBER99)法による構造最適化を行なった。これらの構造を比較すると、HB の  $\pi$  鎖の結合交替は HG や HR よりも強いこと、及び HB の  $\pi$  鎖と  $\beta$ -ionone 環の捩じれが大きいことが分かった。この理由を調べるために、レチナル上に生成されるオプシンの静電ポテンシャル(ESP)を求めた(Fig. 3)。その結果、HB は最も大きな ESP の勾配を有すること、また、HR よりも HG の方が大きな ESP の勾配を有することが分かった。気相中ではシッフベース付近に非局在化していた陽電荷がオプシンの静電相互作用の影響で局

在化し、また静電相互作用が大きいほど局在化の程度は大きくなる。これより、Fig. 2 で示されている両者の ESP の違いがレチナルの結合交替の仕方に影響を与えることが分かった。更に、HB の強い結合交替の影響で  $\pi$  鎖の振じれが大きくなることも分かった。

次に、QM/MM 法による最適化構造を用いて、SAC-CI 計算を行なった(Table 1)。その結果、RMS 誤差 0.06eV で実験値を再現することに成功した(HB; 2.94, HG; 2.32, HR; 2.08 eV)。また、上述のように、対イオンからの量子的相互作用(水素結合など)の効果が励起エネルギーの定量的な再現には不可欠であることが分かった。この結果に基づいて、Rh に対する HB、HG、HR の Color-tuning 機構の起源を探った。Fig. 3 は、Rh に対する Color-tuning 機構を 5つの項目で示している。その結果、HB ではレチナルの構造の違いやオプシンからの静電相互作用が主に寄与し、HG と HR ではオプシンからの静電相互作用の影響が大きく寄与することが分かった。この静電相互作用の違いは Fig. 2 に示される ESP の違いに起因することが分かった。発表当日では、HG と HR における双極子アミノ酸や Cl<sup>-</sup>イオンの影響についても詳しく説明する予定である。

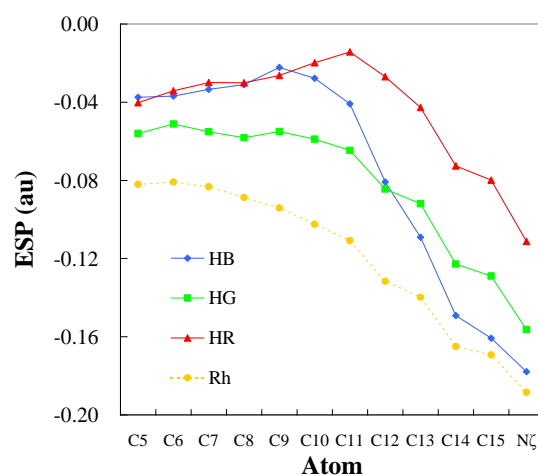


Fig. 2. ESP from opsin environment.

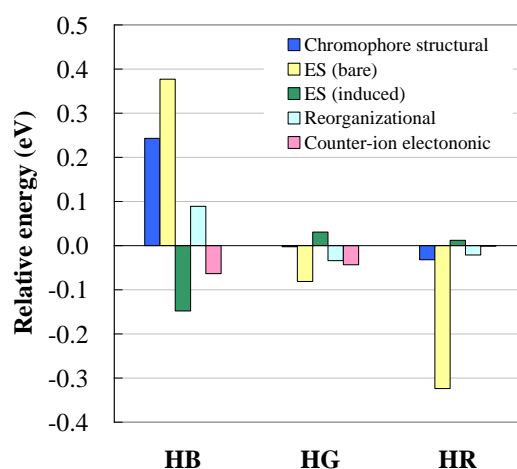


Fig. 3. Decomposition of absorption energy difference from Rh (eV)..

Table 1. SAC-CI absorption energies in the HB, HG, and HR (eV).

Protein	Environment	QM size <sup>a</sup>	SAC-CI			Exptl. (eV)
			Main Config. ( C >0.3)	<i>f</i> (au)	<i>E<sub>ex</sub></i> (eV)	
HB	in opsin	AS	0.94 (H → L)	1.16	2.94	2.99
		RET	0.93 (H → L)	0.98	2.63	
	bare	RET	0.90 (H → L)	0.62	1.61	-
HG	in opsin	AS	0.94 (H → L)	0.97	2.32	2.33
		RET	0.93 (H → L)	0.82	1.99	
	bare	RET	0.91 (H → L)	0.60	1.36	-
HR	in opsin	AS	0.94 (H → L)	0.95	2.08	2.20
		RET	0.93 (H → L)	0.79	1.71	
	bare	RET	0.92 (H → L)	0.67	1.33	-

<sup>a</sup> ‘Active Site’ and ‘RETinal chromophore’ models, respectively.

## References

- [1] K. Fujimoto, J. Hasegawa, S. Hayashi, S. Kato, H. Nakatsuji, *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *414*, 239.
- [2] K. Fujimoto, S. Hayashi, J. Hasegawa, H. Nakatsuji, *J. Chem. Theory. Compt.* **2007**, *3*, 305.
- [3] K. Fujimoto, J. Hasegawa, S. Hayashi, H. Nakatsuji, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *432*, 252.
- [4] K. Fujimoto, J. Hasegawa, H. Nakatsuji, submitted.
- [5] R. E. Stenkamp, S. Filipek, C. A. G. G. Driessen, D. C. Teller, K. Palczewski, *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1565*, 168.