

バクテリオロドプシンの光サイクルにおけるレチナル分子の
カラー・チューニング：SAC-CI法による研究

(¹京大院工,²Duke大,³QCRI) 浅井康太¹、藤本和宏^{1,2}長谷川淳也^{1,3}、中辻博³
asai@quanta.synchem.kyoto-u.ac.jp

【序】バクテリオロドプシンは最小のプロトン輸送タンパク質である。光によるレチナル色素の構造異性化の後、図1のような光サイクルを経て、能動的にプロトンを膜内から膜外へ輸送する。また、図1に示すようにバクテリオロドプシンの光サイクルにおいては各中間体の光吸収ピークが大きく変化することが知られている。この機構において、光サイクル中のM中間体が重要な役割担っており、そのレチナル周辺の構造はFTIRなどの実験が行われているが、未だに未解明である。さらに、各中間体において、構造が異なる種々のX線結晶構造が報告されている。本研究ではQM/MM法による構造最適化および、SAC-CI法による励起エネルギーにより光サイクルにおけるL、M中間体の分子構造を決定し、その中間体におけるカラーチューニングメカニズムを解明することを目的としている。

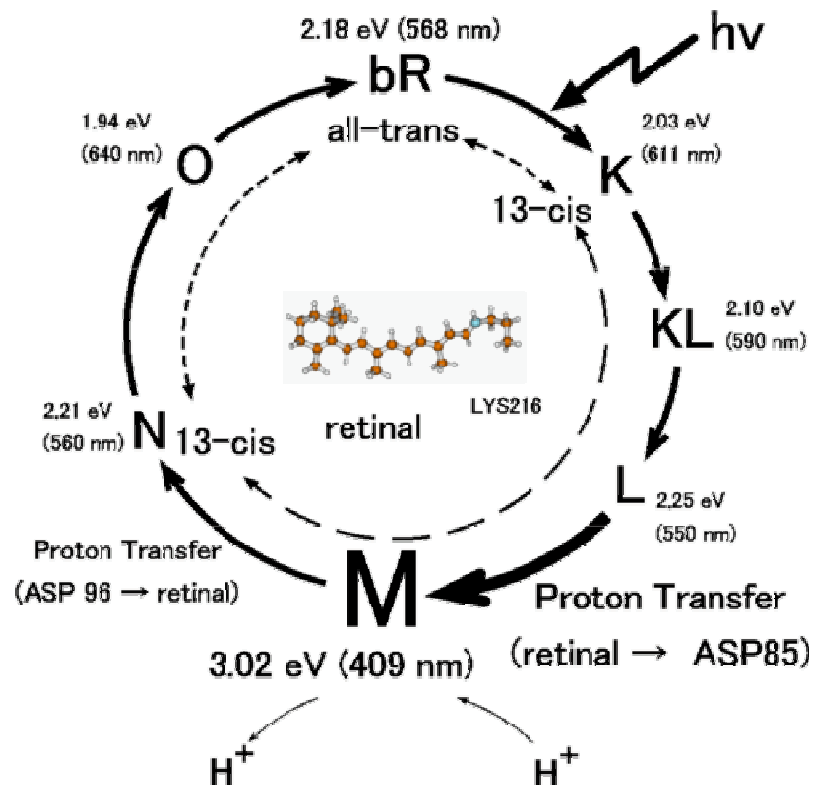


図1.バクテリオロドプシンの光サイクル

【計算方法】X線構造より得られた構造を初期構造とし、QM/MM法による構造最適化を行った。QM領域を図2のように (retinal+ASP85+ASP212+3 HOH) 決め、それ以外の蛋白質をMM領域として扱った。

QM = B3LYP/6-31g(d)

MM = Amber96 force field

得られた構造をSAC-CI法を用いて、励起エネルギーを計算した。QM領域をRetinalのみ、Retinal,ASP85,HOH402をQM領域としたモデルを用い、他をMM領域として計算を行った。

Basis sets : DZP (on -chain and ASP85)

: DZ (The others)

Active space: 1s Frozen-core

MM : Amber96

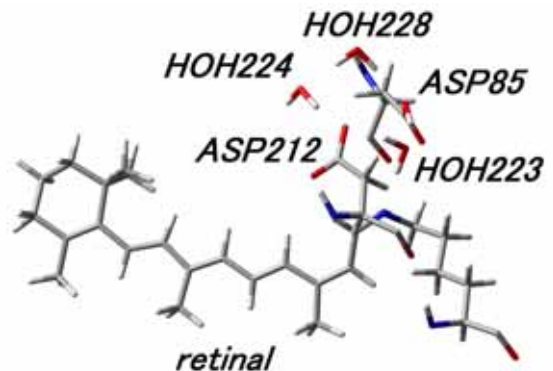


図2 .M state における Retinal 周辺構造

【結果】本研究により、L/M stateにおけるレチナル色素周辺の水素結合ネットワークが明らかになった。図3にL/M stateレチナル色素周辺の構造を示す。L stateからM stateの変化でSchiff base (SB)が脱プロトン化し、プロトンがレチナルのSBからASP85へ移動する。このプロトンの移動によって、レチナルのSB周辺にASP85,HOH402,SBを含む水素結合ネットワーク (ASP85とHOH402,SBとHOH402)が変化する。

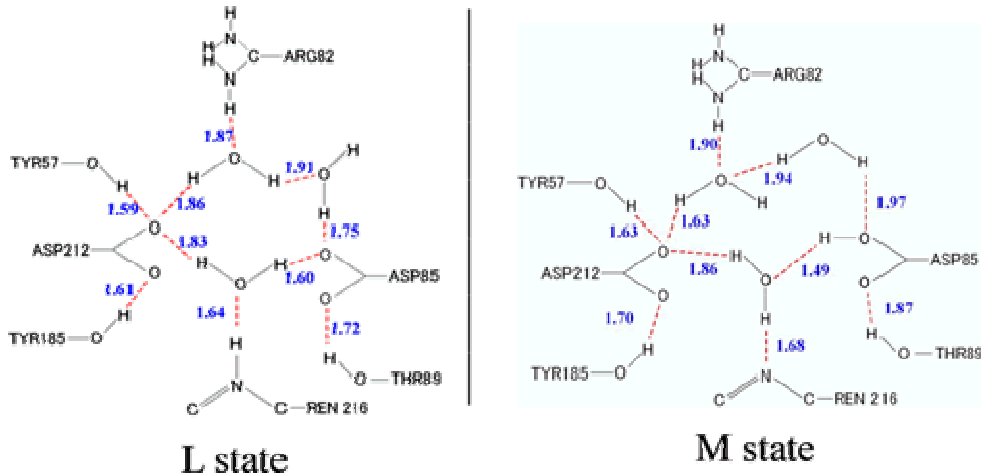


図3 .Retinal周辺の水素結合ネットワーク

次に表1にSAC-CI法によるbR,K,L,M stateの励起エネルギーの計算結果をまとめた。SAC-CI法による励起エネルギーの計算では、系統的かつ定量的にbacteriorhodopsinの吸収エネルギーを再現することに成功した。M stateの吸収エネルギーはL stateと比較して、0.77eVものblue shiftを示している。この大きな吸収エネルギーの違いを以下の3つの効果から検討した。その結果、M stateではレチナル色素のSBが脱プロトン化することで1.70eVのblue shift、蛋白質の静電的な効果によって0.73eVのred shift、カウンターアミノ酸の量子的な効果によって0.23eVのred shiftすることがわかった。つまり、M stateにおけるblue shiftはレチナル色素自体の構造の変化による励起エネルギーの変化の影響が大きいことが明らかになった。また、M stateでは蛋白質の静電的な効果、カウンターアミノ酸の量子的な効果がL stateと比べて小さい。この原因を、励起に伴う差電子密度を解析することで解析した。これは、SBの脱プロトン化により、レチナル色素の電子状態が変化し、分子内のCT性がM stateでは小さくなったことが原因であった。

表1 . SAC-CIによる励起エネルギーの計算結果

Protein	色素環境	QM領域	SAC-CI	
			E _{ex} (eV)	Exptl.(eV)
bR state	蛋白質中	AS*	2.22	2.18**
K state	蛋白質中	AS*	1.89	2.03**
L state	蛋白質中	レチナル	1.97	2.25**
		真空中	1.33	
M state	蛋白質中	レチナル	2.94	3.02**
		真空中	3.03	

PDB entry: bR 1C3W K:1MOK L:100A M:1MOM

* AS:QM領域をretinal,HOH,ASP85とした。

**Csilla Gergely Laszlo Zimanyi and Gyorgy VaroJ.Phy.Chem.B 1997 101 9390-9395