

光生物学システムの励起状態と機能：
高精度電子理論の開発を基盤とする理論的研究

(京大院工) 長谷川 淳也

【はじめに】光が関わる生命現象では、光機能性蛋白質の励起状態がその機能発現に重要な役割を果たしている。光合成では励起されたクロロフィルから電子・ホール輸送が開始され、色覚に関わる錐体視物質や蛍光蛋白質では、励起状態のエネルギー準位を制御することで特定の波長の光吸収や発光が可能になる。これらの機能は、蛋白質に含まれる色素自身の光機能性に依る事は勿論であるが、色素の励起状態と周囲のアミノ酸との分子間相互作用が本質的に重要になる場合が多くみられる。従って、その解析には理論・計算化学的手法が有用になる。他方で、蛋白質においてはアミノ酸配列が立体構造と物理化学的特性を規定するので、遺伝的特性が蛋白質の機能と相関を持つ。従って、分子科学的な理論解析により、機能に関する分子進化という学際的な観点を導入できる可能性がある。このような動機から、励起状態理論の開発を出発点に、生体分子の光化学における初期過程を研究してきた¹。

【計算方法とその開発】一連の研究における励起状態の計算には symmetry-adapted cluster-configuration interaction (SAC-CI)法を主に用いている。信頼性の高い解析を行うためには電子相関を考慮した理論を用いる必要がある。また、色素分子の電子状態と周囲のアミノ酸との分子間相互作用が本質的に重要になる場合、必要な相互作用を記述できる計算モデルのサイズは必然的に拡大してしまう。そこで、比較的大規模な計算対象における SAC-CI 計算を高速化するために、摂動選択に参照 CI ベクトルを導入して波動関数をよりコンパクトにし²、摂動選択アルゴリズムを高速化した³。蛍光蛋白質の発色団程度の分子サイズでは計算時間が約 1/20 に減少し、以下に述べる光機能性蛋白質系においては、重要なアミノ酸残基の幾つかを含んだ SAC-CI 計算がルーチン的に行えるようになった。

また、X 線構造の改良や発光の研究のためには蛋白質も含めた構造最適化計算を行う必要がある。そのために、古典-量子力学ハイブリッド(QM/MM)法の開発を行った。更には、複数の色素を含んだ系に適用できるような拡張についても開発を行っている⁴。

【錐体視物質のカラー・チューニング】ヒトの網膜中には赤・緑・青色の三原色の光に対して応答する錐体視物質、human red(HR), human green(HG), human blue (HB)が存在するが、光に応答して励起するレチナール色素は 3 つの視物質に共通する。つまり、周辺蛋白質がレチナール色素の励起エネルギーを制御しているのである。この機構を解明するために QM/MM 法を用いてレチナー

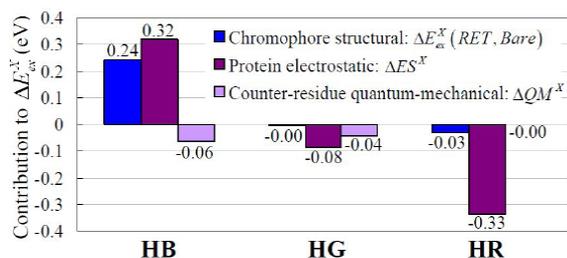


図1. Physical origin of the color tuning. Decomposition analysis on the absorption energy shifts. Rh was used as a reference.

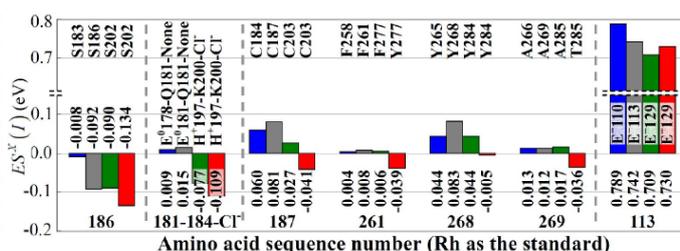


図2. Amino-acid sequences important for the color tuning. The names of the residues and their ES contributions to the excitation energies ($ES^X(I)$, in eV) in HB(blue), Rh (grey), HG (green), and HR (red). Superscripts of E and H denote the charge states of the amino acids.

ル蛋白質の構造を最適化し、SAC-CI法を用いて励起状態を計算し、励起エネルギーの制御メカニズムについて解析した⁵。励起エネルギーの計算値は実験結果を誤差約 0.05 eV 程度で再現できたので、この結果を基に励起エネルギーの起源について解析した(図 1)。その結果、蛋白質-色素間の静電相互作用がスペクトル変化の主因であった。次に、静電相互作用をアミノ酸単位で分割し、その生物学的な起源を調べた(図 2)。その結果、アミノ酸シーケンスに特異的な制御メカニズムが見出された。例えば、186 位のアミノ酸は Rh, HG, HR の励起エネルギーを低エネルギーシフトさせ、HB との差別化がなされている。同様に 181,184 位からなる CI 結合サイトは、HG, HR のみを低エネルギーシフトさせる。このようなシーケンスに特異的かつ系統的なカラー・チューニングに、分子進化との関連性を見出すことができる。

【蛍光蛋白質の発光色制御】橙色蛍光蛋白質 mKO、赤色蛍光蛋白質 DsRed の蛍光は GFP と比較して長波長シフトする。QM/MM 法により励起状態の構造を、SAC-CI 法により発光エネルギーを計算し、その起源について解析した⁶。DsRed の赤方シフトの原因として、 π 電子系がペプチド鎖にまで拡張することが知られている。ところが、電子遷移に分子内電荷移動性があり、電荷アミノ酸との静電相互作用が青方シフトに寄与し、色素の π 系拡張による赤方シフトを打ち消す寄与をする(図 3)。このような意外な結果は

理論計算によって初めて明らかになり、同時に蛍光エネルギーを制御する分子設計指針を与える。励起状態をより安定化させるような静電ポテンシャルをアミノ酸置換により導入できることを提案し、シミュレーションにより確認した⁶。

また、レチナール⁵、蛍ルシフェリン⁷、蛍光蛋白質⁶の研究を通して、容易に吸収波長を変化させる系では、励起状態の分子内電荷移動性と蛋白質静電ポテンシャルの偏りが共通する特徴であることを見出した。

【単参照クラスター展開理論の】他方で、単参照クラスター展開理論を擬縮退電子系に拡張する方法の研究も行った^{8,9}。ポテンシャル面の正確さは光生物学系の分子機構の研究には必須である。SAC 方程式における bra 状態の一般化により定性的に改良し⁸、摂動補正により定量性を得ることができた⁹。今後、更なる開発を進め、光機能性蛋白質の計算に応用したいと考えている。

【参考文献】[1]JH *Mol. Sci.* in press., JH; Nakatsuji, H. In *Radiation Induced Molecular Phenomena in Nucleic Acid: A Comprehensive Theoretical and Experimental Analysis*; Shukla, M., Leszczynski, J., Eds.; Springer, 2008; p 93-124. [2] Nakatsuji, H.; JH; Hada, M. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 2321-2329. [3]JH; Fujimoto, K.; Swerts, B.; Miyahara, T.; Nakatsuji, H. *J. Comp. Chem.* **2007**, *28*, 2443-2452. [4]Kiyota, Y.; JH; Fujimoto, K.; Swerts, B.; Nakatsuji, H. *J. Comp. Chem.* **2009**, *30*, 1351-1359. [5] Fujimoto, K.; JH; Nakatsuji, H. *Chem. Phys. Lett.* **2008**, *462*, 318-320, Fujimoto, K.; JH; Nakatsuji, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2009**, *82*, 1140-1148. [6] JH; Ise, T.; Fujimoto, K.; Kikuchi, A.; Fukumura, E.; Miyawaki, A.; Shiro, Y. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 2971. [7] Nakatani, N.; JH; Nakatsuji, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8756, Nakatani, N.; JH; Nakatsuji, H. *Chem. Phys. Letters* **2009**, *469*, 191.[8]JH; Nakatsuji, H. *Chem. Letters* **2005**, *34*, 1356-1357.[9]JH; Obata, A.; Matsuda, K. *Chem. Phys. Letters* **2010**, *486*, 84.

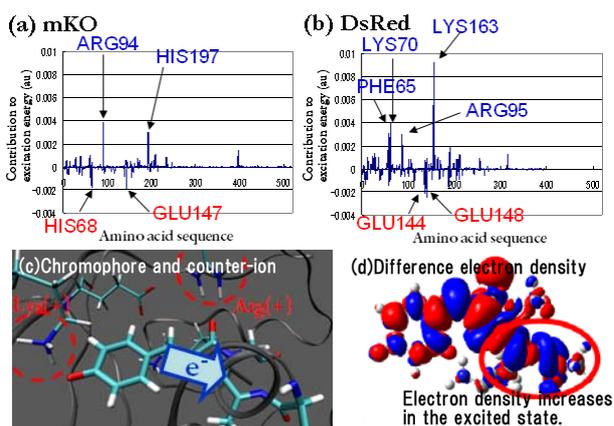


図 3. Electrostatic contribution to excitation energy of (a)mKO and (b)DsRed. (c)DsRed active site. (d)Difference electron density upon the transition. Blue and red parts show electron density increases and decreases in the excited state, respectively.

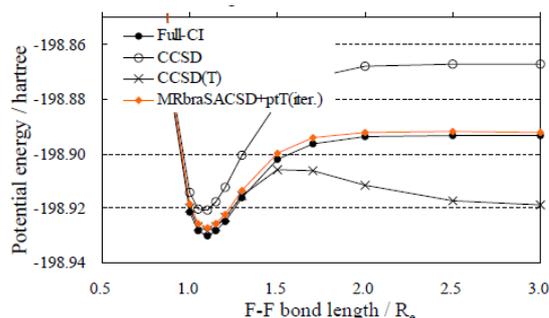


図 4. Potential curve of F₂ calculated with MRbraSACSD and its perturbation triple correction. Those with CCSD and CCSD(T) are also shown for comparison. 6-31G basis set was used.