

## 脱プロトン化による PYP 色素 (*p*-クマル酸) の 吸収スペクトルシフトの機構解明

(京大院工) ○平野 健司, 佐藤 啓文, 榎 茂好

**[緒言]** Photoactive Yellow Protein (PYP) は負の走光性の光受容蛋白質である。この蛋白質の光反応は、*p*-クマル酸の異性化反応が引き金となり起こる。*p*-クマル酸はカルボキシル基とフェノール基を有するため、図 1 に示すように、4 つの異なるプロトン化状態 ( $p\text{CA}$ 、 $p\text{CA}_1^-$ 、 $p\text{CA}_2^-$ 、 $p\text{CA}^{2-}$ ) をとることができる。この 4 つの *p*-クマル酸の吸収スペクトルに関する多くの実験的、理論的研究が行われており、それぞれ異なる励起エネルギーを示すことが知られている<sup>1-3</sup>。しかし、プロトンが付加する位置によってスペクトルシフトが異なる原因を解明した例は未だない (特に  $p\text{CA}_1^-$  と  $p\text{CA}_2^-$  の励起エネルギーが大きく異なる)。また溶媒がスペクトルに与える影響を考察した理論研究も存在しない。*p*-クマル酸は、PYP 中では  $p\text{CA}_2^-$  の状態で存在し、周りの残基の影響でさらにスペクトルシフトする<sup>4</sup>。このため、プロトン化や溶媒などの周囲の環境がスペクトルに与える影響を解明することは、蛋白質色素の研究として非常に重要である。そこで、我々は量子化学計算を行うことで、異なるスペクトルシフトを示す原因を考察した。また、RISM-SCF-SEDD 法<sup>5</sup>を用いて、この 4 種類の *p*-クマル酸の水溶液中の吸収スペクトルを算出し、溶媒効果がスペクトルに与える影響を考察した。

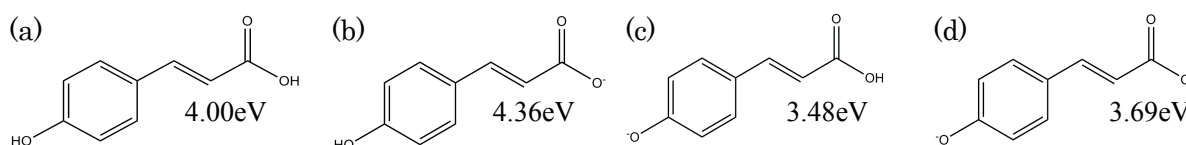


図 1. (a)  $p\text{CA}$ 、(b)  $p\text{CA}_1^-$ 、(c)  $p\text{CA}_2^-$ 、(d)  $p\text{CA}^{2-}$  の構造。数字はそれぞれの励起エネルギー (水溶液中) を示す。

**[計算方法]** 構造最適化は DFT(B3LYP)法で行った。気相中の励起エネルギー計算には TD-DFT(B3LYP) 法を用いた。水溶液中の励起エネルギーの計算には、RISM-SCF-SEDD/TD-DFT(B3LYP)法を用いた。基底関数はすべての計算で、炭素原子と水素原子に cc-PVTZ、酸素原子に aug-cc-PVTZ を用いた。ただし、f 軌道は取り除いた。計算パッケージは、構造最適化には Gaussian03 を使用した。気相中、水溶液中の励起エネルギーの計算には Gamess を使用した。

**[結果と考察]** Putschögl ら<sup>1</sup>によって、 $p\text{CA}$ 、 $p\text{CA}_1^-$ 、 $p\text{CA}_2^-$  の水溶液中の吸収スペクトルが測定されている。また、Rocha-Rinza ら<sup>2</sup>によって  $p\text{CA}_2^-$  (ただし、カルボキシル基の水素をメチル基に置換) の水溶液中の吸収スペクトルが観測されている。これらの実験で得られた励起エネルギーと、今回の計算で得られた気相中、及び水溶液中の励起エネルギーを図 2 にまとめた。計算で得られた気相中の励起エネルギー

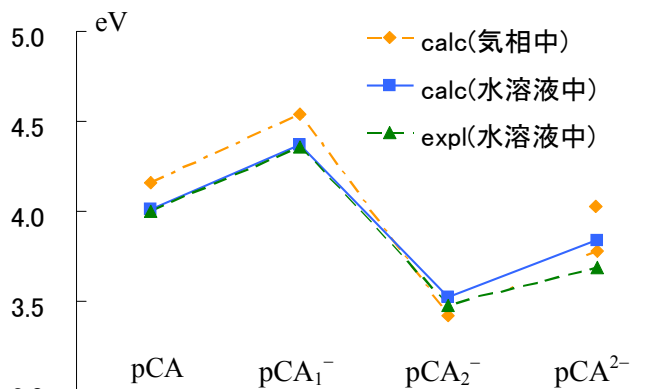


図 2. 4 つの *p*-クマル酸の励起エネルギー

(黄色線) と水溶液中の励起エネルギー (青線) を比較したところ、 $0.06\text{eV}\sim 0.24\text{eV}$  程度異なることが分かった。双方とも、 $p\text{CA}_1^-$  は  $p\text{CA}$  に比べてブルーシフトしており、 $p\text{CA}_2^-$  はレッド

シフトした。つまり、励起エネルギーの順番に入れ替わりは見られなかった。しかし、水溶液中の励起エネルギーの計算結果（青線）は、実験値（緑線）と良い一致を示し、溶媒効果を取り入れたことで、励起エネルギーの値を定量的に正しく評価できた。

*p*-クマル酸の励起状態の帰属に関しては未だにコンセンサスが得られていない。今回の我々の計算結果によると、4つの*p*-クマル酸の水溶液中の励起エネルギーは、図3に示したような分子全体に広がった形をした軌道間の遷移（7a'' → 8a''）が最も寄与していることが分かった。一方、気相中でも、pCA、pCA<sub>2</sub><sup>-</sup>、pCA<sup>2-</sup>は水溶液中と同様の傾向を示した。しかし、pCA<sub>1</sub><sup>-</sup>では6a'' → 8a''と6a'' → 9a''の両方が大きく寄与していた。これら電子遷移に最も寄与するKS軌道の軌道エネルギー差を図4に示した。この軌道エネルギーの振る舞いは、図2に示した励起エネルギーの振る舞いと同様である。つまり、4つの*p*-クマル酸の励起エネルギー差は、これらの軌道間の軌道エネルギー差から生じているといえる。

図5にpCA<sub>1</sub><sup>-</sup>の軌道エネルギー準位を示した。実線はa''対称の軌道、点線はa'対称の軌道である。カルボキシル基の酸素に局在化した軌道を橙色で示した。矢印は励起エネルギーに寄与する電子遷移を示している。気相中では分子全体に広がった6a''軌道の上にカルボキシル基に局在化した7a''軌道が存在していた。また、分子全体に広がった8a''軌道とベンゼン環に局在化した9a''軌道準位が非常に接近していた。一方、水溶液中では7a''軌道の準位が大きく下がり、5a''軌道になった。これは、カルボキシル基に局在化した7a''軌道は溶媒効果による安定化を受けやすいためだと考えられる。このように、溶媒効果により軌道の順番が入れ替わるため、励起エネルギーに寄与する軌道が異なると考えられる。

## [文献]

1. M. Putschögl, P. Zirak, A. Penzkofer, *Chem. Phys.*, **343**, 107 (2008).
2. T. Rocha-Rinza, O. Christiansen, J. Rajput, A. Gopalan, D. B. Rahbek, L. H. Andersen, A. V. Bochenkova, A. A. Granovsky, K. B. Bravaya, A. V. Nemukhin, K. L. Christiansen, M. B. Nielsen, *J. Phys. Chem. A*, **113**, 9442 (2009).
3. Y. Ma, M. Rohlfing, C. Molteni, *J. Chem. Theor. Comp.*, **6**, 257 (2010).
4. T. E. Meyer, *Biochim. Biophys. Acta*, **806**, 175 (1985).
5. D. Yokogawa, H. Sato, S. Sakaki, *J. Chem. Phys.*, **126**, 244504 (2007).

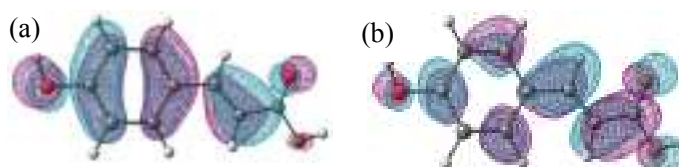


図3. pCA（水溶液中）の(a)7a''軌道と(b)8a''軌道

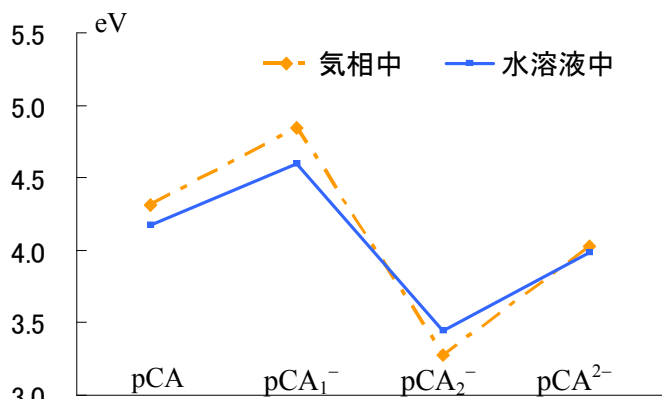


図4. 電子遷移に寄与する軌道間のエネルギー差

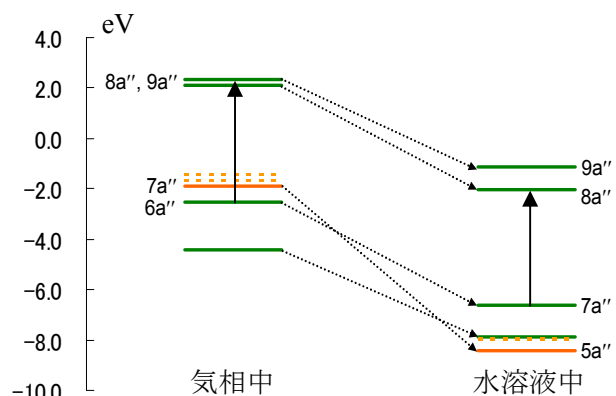


図5. pCA<sub>1</sub><sup>-</sup>の軌道エネルギー準位