

1P137

緑色蛍光タンパク質の蛍光スペクトル に関する理論的研究

(京都大院・理*、琉球大・理**) ○内田芳裕*、東雅大**、林重彦*

Theoretical study on the fluorescent spectrum of enhanced green fluorescent protein

(Graduate School of Science, Kyoto Univ. *, Faculty of Science, Univ. of the Ryukyus)
Yoshihiro Uchida*, Masahiro Higashi**, Shigehiko Hayashi*

【序】

蛍光タンパク質は、とても効率の良い発光特性を有し、生物学の様々な分野で優れた分子マーカーの一つとして広く利用されています。その蛍光スペクトルは、蛍光タンパク質の重要な光物理学的性質の一つであり、発色団の電子状態やタンパク質の構造揺らぎなど多くの情報が含まれています。ここでは、蛍光タンパク質の蛍光スペクトルの分子シミュレーション研究について発表します。まず、タンパク質の蛍光スペクトルを計算するための新規の手法を紹介します。次に、この手法を緑色蛍光タンパク質の一つである EGFP に応用することにより、スペクトルの形状の起源について議論します。この蛍光スペクトルを計算する新たな手法は、色変異体やイオンセンサーのような蛍光タンパク質の機能設計において有用です。

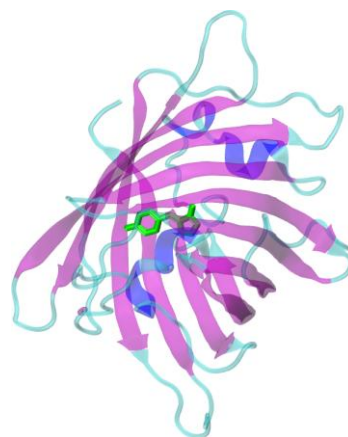
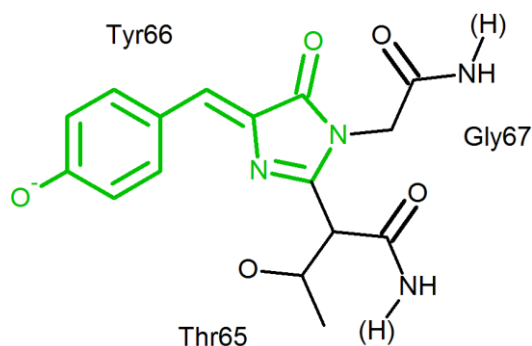


図1. EGFP の発色団 (図中緑) 周辺の構造

図2. EGFP とその発色団 (緑) の構造

【方法】

蛍光タンパク質のスペクトルの計算に際しては、発色団の電子状態を正確に記述することと、長時間にわたるタンパク質の構造揺らぎを取り込むことが重要です。しかし励起状態計算は長時間の計算を要するため、発色団の励起状態を高精度に記述することと長時間にわたるタンパク質の構造揺らぎを取り込むことの両立は困難でした。本研究では、QM/MM 自由エネルギー法の一つである QMMM-RWFE-SCF 法を拡張し励起状態計算に用いることにより、蛍光スペクトルを計算します。この方法の特徴は、周囲のタンパク質・水環境がつくる平均場の下で、発色団の電子状態計算を効率良く行うことができる点であり、高精度の励起状態計算と長時間サンプリングの両立を可能にします。

【結果】

QM/MM-RWFE-SCF 法を用いて自由エネルギー面上で発色団の構造を最適化した後、周りのタンパク質・水の構造分布を用いて、スペクトルの計算を行いました。この際、平衡構造での自由エネルギー面の曲率を用いて発色団の振動分布の寄与も考慮しています。この解析から、発色団の電子状態の変化とタンパク質の大きな構造揺らぎが相関してスペクトルの形状を決めていることが分かりました。その詳細については、当日議論を行います。

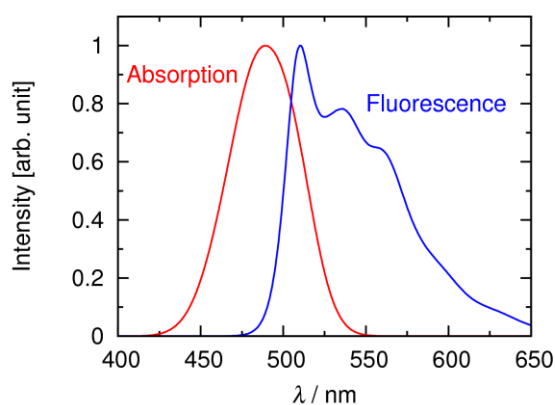


図3. 計算された EGFP の吸収及び蛍光スペクトル