

1E05

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

(京都大学*、琉球大学**) ○内田芳裕*、東雅大**、林重彦*

A Theoretical Study on the Fluorescence spectrum of Enhanced Green Fluorescent Protein

(Kyoto Univ.*, Univ. of Ryukyus**)

○Yoshihiro Uchida*, Masahiro Higashi**, Shigehiko Hayashi*

【はじめに】

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に関する様々な有益な情報を反映している。しかしながら、蛍光スペクトルのスペクトル形状の起源についてはいままで十分には議論されてこなかった。スペクトル形状を理解するには、二つの要因—励起状態の電子状態とタンパク質の構造揺らぎ—が重要となる。正確な励起状態の電子的記述には、*ab initio* (非経験的) 量子力学 (QM) 計算が必要であり、一方タンパク質の熱揺らぎを十分に考慮するためには、長時間の分子力学 (MM) シミュレーションが不可欠となる。正確かつ効率的にこれらの要因を考慮するために、我々は、ハイブリッド QM/MM 法の一つ (QM/MM-RWFE-SCF 法¹) を励起状態計算に拡張した。この新しい方法を用いることで、現実により近い蛍光スペクトルの *ab initio* 計算が可能となる。

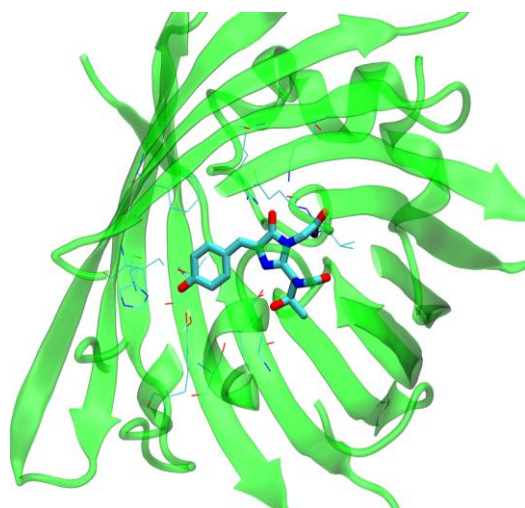


図 1. EGFP の励起状態の構造。発色団については最適化された構造を、タンパク質は MD のスナップショットを示す。

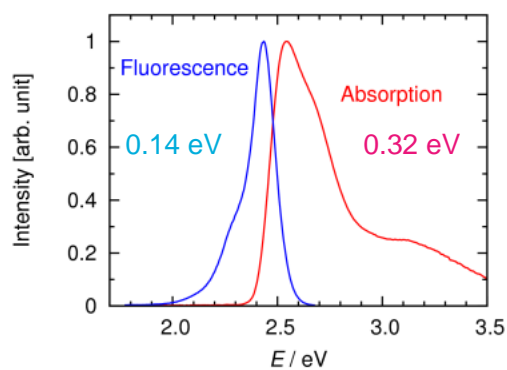


図 2. 実験による EGFP の吸収、蛍光スペクトル。スペクトルの FWHM を横に示す。

【方法】

我々は、このスペクトル計算法を enhanced green fluorescent protein (EGFP、図 1) に適応した。EGFP は、吸収スペクトルが蛍光スペクトルに比べて幅広いスペクトルをもつという特徴がある (図 2)。QM/MM-RWFE-SCF 法を用いて、発色団の構造を基底、励起状態それぞれについて決定し、吸収、蛍光スペクトルの計算を行い、実験のスペクトルのシミュレーションによる再現を試みた。

【結果と考察】

シミュレーションにより計算された蛍光スペクトルは、実験によるスペクトルの特徴をよく再現した (図 3)。吸収と蛍光の際の発色団内の電荷の移動について解析を行ったところ、吸収の際の電荷分布の変化が、蛍光の時と比べて、より大きいことがわかった。遷移エネルギーの幅は電荷分布の変化の強度に比例するため、スペクトル幅の違いは電子分布の変化の大きさの差で説明される。すなわち、吸収、蛍光の際の電荷移動の強度が、スペクトルの幅広さを決めていることが示唆される。

また、吸収、蛍光発光に伴う発色団やタンパク質の構造変化、発色団周りの水素移動ネットワークについても解析を行う。

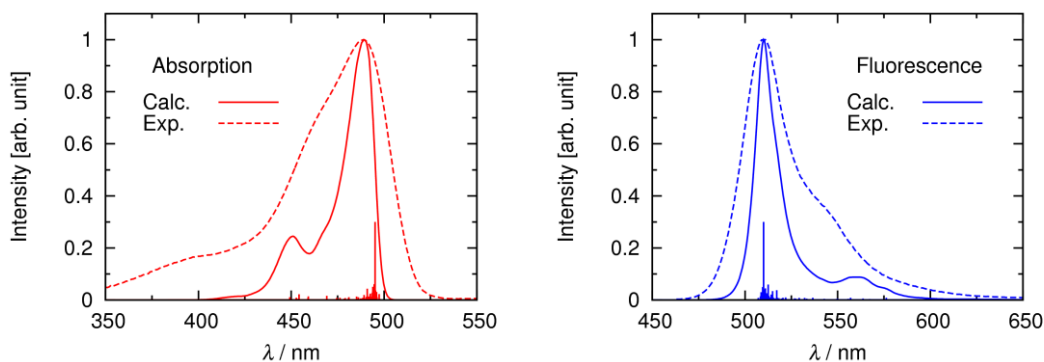


図 3. 計算による EGFP の吸収 (左)、蛍光 (右) スペクトル。ただしピーク波長は、実験のデータと一致するようにシフトされている。

【参考文献】

- (1) Kosugi, T.; Hayashi, S. *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 322.