

2P123

光駆動イオン輸送型ロドプシンのイオン輸送メカニズムの解明

(量子化学研究協会研究所) ○宮原 友夫、中辻 博

Ion transport mechanism of light-driven ion pumping rhodopsins

(QCRI) ○Tomoo Miyahara, Hiroshi Nakatsuji

【序】 光駆動イオン輸送型ロドプシンは H^+ を細胞外に排出するバクテリオロドプシン(BR)と、 Cl^- を細胞内に取り込むハロロドプシン(HR)が良く研究されてきた[1]。2013年に神取秀樹教授グループにより *Krokinobacter eikastus* と呼ばれる海洋微生物から Na^+ を細胞外に排出するイオンポンプ型ロドプシン (KR2) が初めて発見された[2]。BR, HR, KR2 は異なる波長を吸収して、異なるイオンを輸送する。そこで、光励起状態の計算に有用な SAC-CI 法 [3-5] を用いて、BR, HR, KR2 の吸収する光の波長やイオン輸送メカニズムの違いを明らかにすることを目的とする。

【計算方法】 計算に用いた構造は、X 線結晶構造を初期構造として、QM/MM 法により構造最適化した。

励起エネルギーは SAC-CI 法により D95(d) レベルの基底関数を用いて、LevelTwo で計算した。SAC-CI 計算では、レチナール色素とその周辺のアミノ酸と水のみを QM 領域とし、残りを点電荷として MM 領域に加えた。

【結果】 BR, HR, KR2 の HOMO-LUMO 励起の SAC-CI エネルギーを表 1 に示す。HR が高めに計算されたが、これは Cl^- を含むレチナール周辺の蛋白質環境が異なるためである。次に 3 種類のロドプシンの光異性化反応における中間状態の吸収エネルギーの変化を SAC-CI 法により計算し、イオン輸送メカニズムについて考察する。

BR は光異性化反応により、基底状態 $(G) \rightarrow K \rightarrow L \rightarrow M \rightarrow N \rightarrow O \rightarrow G$ と構造が変化し(図 2)、 H^+ を細胞内から細胞外へと運ぶ。基底状態のレチナールは

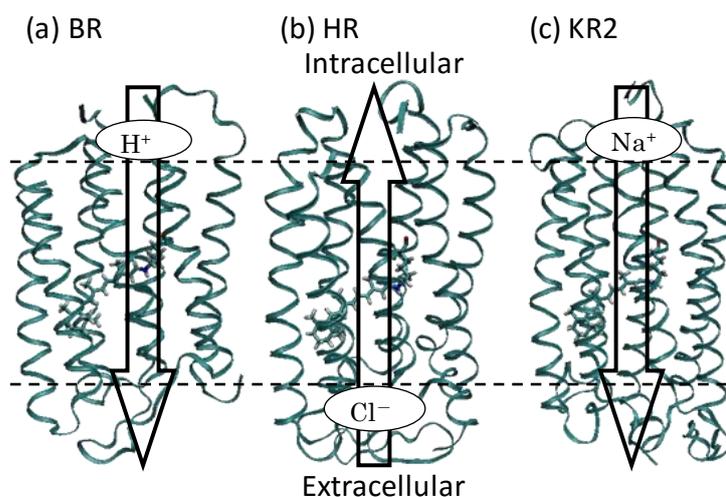


図 1. BR, HR, KR2 の構造

表 1. BR, HR, KR2 の HOMO-LUMO 励起エネルギー(eV)

	SAC-CI	Exptl.
BR	2.11	2.18
HR	2.34	2.14
KR2	2.45	2.36

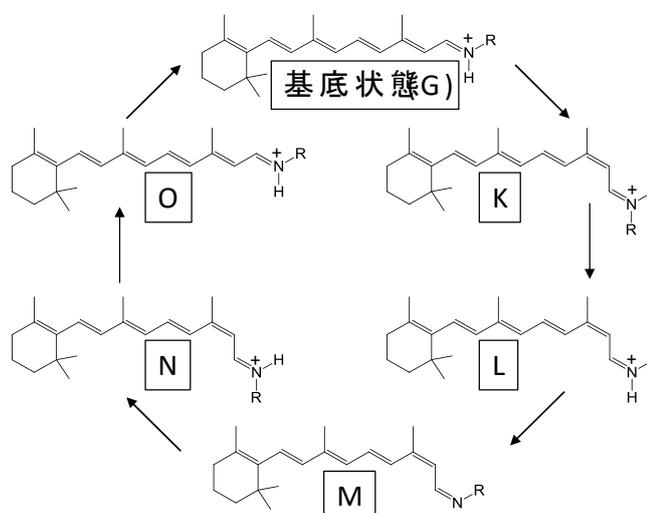


図 2. BR の光異性化反応

all-trans 型であるが、光により 13-cis 型に異性化し K 状態になる。構造緩和によりシッフ塩基と ASP85 の間に水素結合が形成した L 状態を経由し、シッフ塩基のプロトンが ASP85 に移動した M 状態を作る。細胞内から取り込んだプロトンがシッフ塩基を再プロトン化した N 状態、13-cis 型から all-trans 型に熱異性化した O 状態を経由して元の基底状態になる。

BR の HOMO-LUMO 励起エネルギーを表 2 と図 3 に示す。SAC-CI の励起エネルギーは 0.1~0.2 eV の誤差で一致しているが、N 状態の励起エネルギーは実験値より 0.5 eV 以上低く計算された。これはレチナール周辺にある水が、シッフ塩基に引き抜かれ OH⁻として存在しているためだと考えられる。

HR は BR と同様の光異性化反応により Cl⁻を細胞外から細胞内に取り込む。シッフ塩基からカウンターイオンへの H⁺移動は起こらず、Cl⁻がシッフ塩基の回転とともに移動する。

HR の HOMO-LUMO 励起エネルギーを表 3 と図 4 に示す。SAC-CI 励起エネルギーは 0.1~0.2 eV の誤差で一致しているが、O 状態の励起エネルギーは実験値より 0.4eV 以上低く計算された。これは Cl⁻が蛋白質外へ排出され、レチナール周辺の正電荷が大きくなりすぎたためだと考えられる。そこでレチナールと水素結合している水を OH⁻に置き換えたモデル(OH モデル)を作成して計算したところ、励起エネルギーは実験値に近づいた。これらの結果から、Cl⁻は H⁺と一緒に蛋白質に取り込まれ、Cl⁻のみが蛋白質を通過すると考えることができる。

KR2 は BR と同様の光異性化反応により、Na⁺を細胞内から細胞外へと運ぶ。しかし、KR2 の Na⁺輸送メカニズムは、BR の H⁺輸送メカニズムと異なると考えられていて、現在検討中である。

発表当日は、BR, HR, KR2 のイオン輸送メカニズムの詳細について考察する予定である。

【謝辞】 本研究成果は、自然科学研究機構 計算科学研究センターの利用により得られたものであり、深く感謝いたします。

【参考文献】 [1] O. P. Ernst, D.T. Lodowski, M. Elstner, P. Hegemann, L. S. Brown, H. Kandori, *Chem. Rev.* 2014, 114, 126. [2] H. E. Kato, K. Inoue, H. Kandori, O. Nureki, et. al. *Nature*, 2015, 521, 48. [3] Nakatsuji, H.; Hirao, K.; *J. Chem. Phys.* **1978**, 68, 2053; Nakatsuji, H.; *Chem. Phys. Lett.* **1978**, 59, 362.; **1979**, 67, 329, 334; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2005**, 78, 1705. [4]. Ehara, M.; Hasegawa, J.; Nakatsuji, H.; *Theory and applications of Computational Chemistry, The First 40 Years*, Elsevier Oxford, 2005; p1099. [5] SAC-CI homepage. <http://www.qcri.or.jp/sacci/> (16/12/2012).

表 2. BR の HOMO-LUMO 励起エネルギー(eV)

	SAC-CI	Exptl.
G	2.11	2.18
K	1.78	2.03
L	2.05	2.25
M	3.14	3.01
N	1.66	2.21
O	1.77	1.94

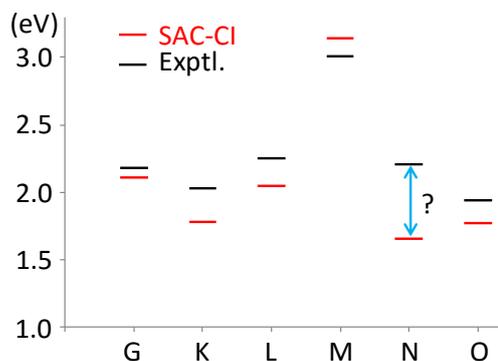


図 3. BR の励起エネルギー

表 3. HR の HOMO-LUMO 励起エネルギー(eV)

	SAC-CI	Exptl.
G	2.34	2.14
L	2.34	2.34-2.38
N	2.45	2.39
O	1.62	2.04
	2.19 ^(a)	

^(a) OH モデルによる計算結果。

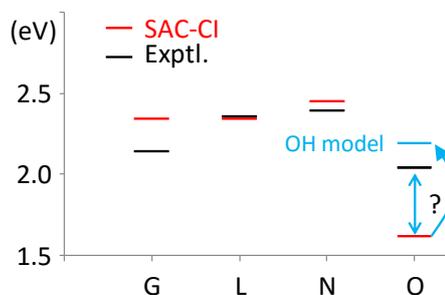


図 4. HR の励起エネルギー