

SAC-CI法による光受容膜蛋白質の理論的研究

量子化学研究協会研究所

○宮原 友夫, 中辻 博

Theoretical Study of Photoreceptor Protein by SAC-CI method

○Tomoo Miyahara, Hiroshi Nakatsuji

Quantum Chemistry Research Institute, Japan

【Abstract】 Rhodopsins consist of seven transmembrane α -helices (opsin) with a retinal chromophore. The retinal chromophore shows photo-isomerization from all-trans to 13-cis in microbial rhodopsins. The photo-isomerization acts as a light-driven outward proton pump in bacteriorhodopsin (BR) and as a light-driven inward chloride pump in halorhodopsin (HR). A sodium-ion pumping rhodopsin (KR2) was discovered by Kandori and Nureki et al. In this study, to elucidate the ion-pumping mechanisms of BR, HR and KR2, we have theoretically calculated their ground and excited states using the symmetry adapted cluster-configuration interaction (SAC-CI) method that clarified the color-tuning mechanisms of visual rhodopsins in human retina. The SAC-CI studies showed (1) the excitation energies change by the ARG rotation for the L and N intermediates in BR, (2) the water molecule hydrogen-bonding to the Schiff base exists as a hydroxide ion instead of a chloride ion for the O intermediate in HR and (3) the retinal chromophore is 13-cis for the O intermediate in KR2.

【序】 ロドプシン[1-3]はレチナール色素とオプシン(蛋白質)からなり、レチナールはオプシンのリシン側鎖と結合している。レチナールは光異性化反応を起こし、微生物型では all-trans から 13-cis に、動物型では 11-cis から all-trans に異性化する。微生物型ロドプシンは細胞膜に存在し、プロトンを送るバクテリオロドプシン(BR)や塩化物イオンを送るハロロドプシン(HR)などがあり、さらに、ナトリウムイオンを送るロドプシン(KR2)が 2013 年に神取教授・濡木教授らにより発見された[4]。

信頼性の高い励起状態理論である SAC-CI 法[5-7]は、ヒトの網膜に存在する動物型ロドプシンのカラーチューニングメカニズムを解明するなど、photo-biology の研究にとっても有用である[8]。本研究では、レチナール蛋白質で既に成功を収めている SAC-CI 法により、BR, HR, KR2 のイオン輸送メカニズムを明らかにする。

【方法】 バクテリオロドプシン(BR)とハロロドプシン(HR)は、多くの研究があり基底状態だけでなく中間体の X 線結晶構造も測定されている。そこで、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て得られた構造を用いて、SAC-CI 法により励起状態を計算した。2013 年に神取教授らのグループにより発見されたナトリウムイオン輸送ロドプシン(KR2)は、基底状態の X 線結晶構造以外の中間体の構造がないため、BR と HR の X 線結晶構造と

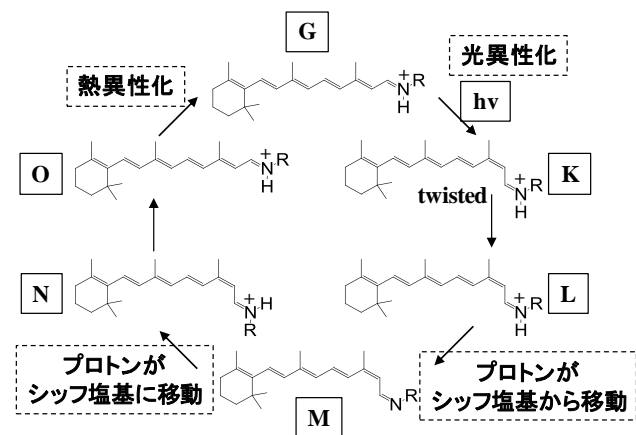


Fig.1. Photocycle of bacteriorhodopsin (BR).

QM/MM 最適化構造から、KR2 の中間体の構造を作成し、これを初期構造として QM/MM 法により構造最適化した。得られた QM/MM 最適化構造を用いて SAC-CI 法により励起状態を計算した。

【結果・考察】バクテリオロドプシン(BR)は、Fig.1 に示すように、レチナールの光異性化反応の後、レチナールのシッフ塩基から ASP85 にプロトンが移動し、そのプロトンは細胞外へと運ばれる。シッフ塩基は細胞内からプロトンを受け取り、最後にレチナールが熱異性化して all-trans に戻る。これらの過程で K,L,M,N,O と呼ばれる中間体が存在し、吸収スペクトルが観測されている。レチナールの近くに存在している ARG82 は、水に囲まれているため簡単に回転することができる(Fig.2)。そこで回転による励起エネルギー変化を SAC-CI 法で計算したところ、基底状態(G)と中間体 K,M,O は ARG82 の回転による影響はほとんどないが、中間体 L,N は ARG82 の回転により励起エネルギーが大きく変化し吸収スペクトルに大きな影響を与えることが分かった。

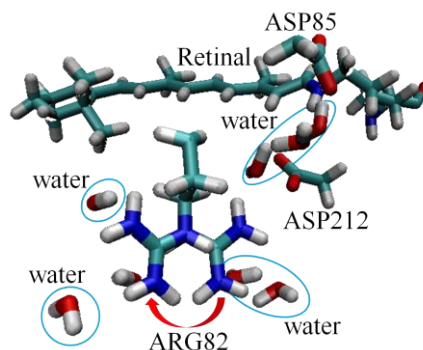


Fig.2. Structure around retinal of BR.

ハロロドプシン(HR)では、BR の ASP85 が THR126 に置換しているため、光異性化してもシッフ塩基のプロトンは移動しない。代わりに、シッフ塩基の回転に伴い、塩化物イオンが移動する。HR の基底状態(G)と中間体 L,N の励起エネルギーは実験値とよく一致したが、中間体 O の励起エネルギーは実験値より 0.4 eV 低く計算された。そこで、レチナール周辺の ARG の回転と水の状態を検証したところ、基底状態(G)でシッフ塩基の近くにあった塩素イオンの代わりに、中間体 O ではシッフ塩基と水素結合している水が水酸化物イオン(OH⁻)となっていることが示唆された(Fig.3)。

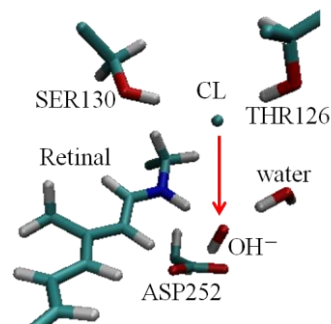


Fig.3. Structure of HR.

ナトリウムイオン輸送ロドプシン(KR2)では、光異性化反応によりプロトンがシッフ塩基から ASP116 に移動した後、ASP116 は回転して ASN112 と水素結合する。この ASP116 の回転によりできた空洞をナトリウムイオンが通過する(Fig.4)。中間体 L,M,N,O に加えて、ASP116 が回転した状態(R)の計算をしたところ、ASP116 が回転することにより、中間体 N で Na⁺がシッフ塩基と結合できることが確かめられた。また、BR と HR の中間体 O のレチナールは all-trans であるのに対し、KR2 の中間体 O は Na⁺が通過した後の状態でレチナールは 13-cis であることが示唆された。

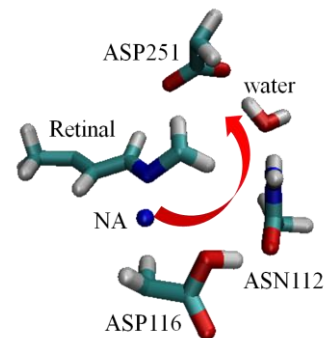


Fig.4. Structure of KR2.

【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] Y. Shichida, T. Matsuyama, *Phil. Trans. R. Soc. B* **364**, 2881 (2009). [2] K. Tsutsui, Y. Shichida, *Photochem. Photobiol. Sci.* **9**, 1426 (2010). [3] O. P. Ernst, D. T. Lodowski, M. Elstner, P. Hegemann, L. S. Brown, H. Kandori, *Chem. Rev.* **114**, 126 (2014). [4] H. E. Kato, K. Inoue, H. Kandori, O. Nureki, et al. *Nature* **521**, 48 (2015). [5] H. Nakatsuji, K. Hirao, *J. Chem. Phys.* **68**, 2053 (1978), H. Nakatsuji, *Chem. Phys. Lett.* **59**, 362 (1978), **67**, 329, 334 (1979), *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **78**, 1705 (2005). [6] M. Ehara, J. Hasegawa, H. Nakatsuji, *Theory and applications of Computational Chemistry, The First 40 Years*, Elsevier Oxford, (2005); pp.1099. [7] SAC-CI homepage. <http://www.qcri.or.jp/sacci/> (16/12/2012). [8] K. Fujimoto, J. Hasegawa, H. Nakatsuji, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **82**, 1140 (2009).