

1P053 ONIOM 法によるロドプシン蛋白質中のレチナールの基準振動解析

(広島大院理¹・広島大QuLiS²) 吉田 弘^{1,2}, 橋本貴世¹, 原田隆範², 松原世明²

【序】蛋白質中での光反応サイクルにおいて重要な役割を果たしているレチナールは、構造生物学的に興味をもたれ、振動分光学的にも共鳴ラマン分光法などにより、そのダイナミクスが研究されてきた。共鳴ラマン分光法では、巨大蛋白質中の色素分子の振動スペクトルを選択的に得ることができるが、蛋白質中にある色素分子の基準振動解析は困難であり、これまでは、蛋白質との相互作用を考慮せずに、モデル化合物を用いて計算を行う場合が多かった¹⁾。しかし、蛋白質中での色素分子の構造変化と機能との関係を正しく理解するためには、それらの間の分子間相互作用が重要であり、蛋白質中での色素分子の振動解析は周囲との相互作用を考慮して行う必要がある。本研究では、ONIOM 法を用いることにより、レチナール周辺のアミノ酸残基との間の相互作用を取り込んだ形で、プロトン化したレチナールシッフ塩基の基準振動解析を実現したので報告する。

【計算】 ONIOM 法による計算は、Gaussian03 を用いて行った。計算対象は Halobacterium salinarum のバクテリオロドプシン(1C3W)²⁾である。計算はレチナール周辺のアミノ酸として 20 残基を切り出して行った(図1)。ONIOM 法でのレイヤーは、次のように3種類の方法で設定した(MO 法並びに DFT 法での基底関数系は 6-31G(d)を用いた)。

1. レチナールシッフ塩基は HF 法で計算し、アミノ酸残基は Amber を用いて計算する方法 (Method I)
2. レチナールシッフ塩基は B3LYP 法を用い、アミノ酸残基は Amber を用いて計算する方法 (Method II)
3. レチナールシッフ塩基は MP2 法を用い、アミノ酸残基は Amber を用いて計算する方法 (Method III)
4. レチナールシッフ塩基の共役した二重結合鎖は MP2 法を用い、イオン環部分は HF 法を用い、アミノ酸残基は Amber を用いて計算する方法 (Method IV)

なお、周辺アミノ酸残基の影響をみるために、レチナールシッフ塩基だけのモデル系(図2)、ならびに、レチナールシッフ塩基にリシン残基をつけたモデル系について同様な計算を行った。振動計算はプロトン化した水素を重水素に置き換えたものについても行った。

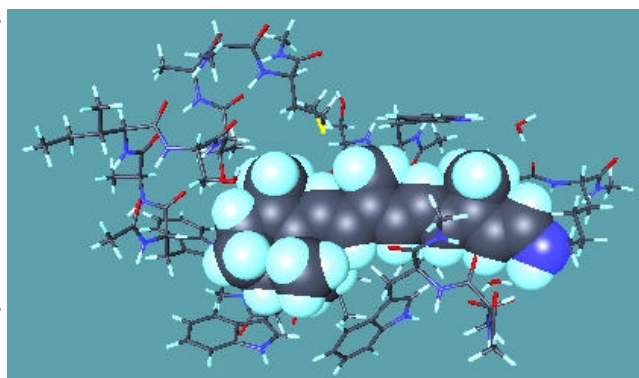


図1. 振動計算に用いたアミノ酸残基を含むレチナールシッフ塩基

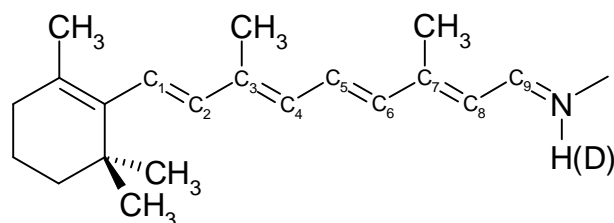


図2. 比較のための振動計算に用いたレチナールシッフ塩基モデル

【結果】 20 残基を取り出したバクテリオロドプシンの構造最適化の結果得られた、レチナールの構造パラメータを表 1 に示す。周辺アミノ酸残基を含めて構造最適化したレチナールのポリエン鎖部分は、真空中でのものとは異なり、やや捻れた構造をとっている。この結果は、バクテリオロドプシン全体を ONIOM 法で full optimize した結果³⁾とよく一致しており、蛋白質中の周辺残基の影響でポリエン鎖部分が捻れていると結論できる。また、さまざまな方法で計算された C=N 伸縮振動の計算波数値ならびに重水素置換による波数シフトを示す。標準的なスケール因子を用いることにより、どの計算方法においても実測の波数値（ノーマル種：1640 cm⁻¹，重水素化種：1628 cm⁻¹）を再現し、特に Method IV は同位体シフトをよく再現している。モデル系ではないバクテリオロドプシンそのものの中におけるレチナールシッフ塩基の基準振動解析については当日報告する予定である。

表 1 . 各種計算方法によるレチナールのポリエン鎖の捻れ（単位：度）

回転軸	レチナールシッフ塩基モデル			レチナール + 20 残基		
	Method I	Method II	Method IV	Method I	Method II	Method IV
C ₁ =C ₂	-178.7	-178.2	-178.6	-179.7	-179.0	-179.9
C ₂ -C ₃	179.1	179.1	179.4	-174.3	-174.3	-174.4
C ₃ =C ₄	180.0	179.9	179.9	-177.1	-176.0	-176.3
C ₄ -C ₅	179.9	179.9	180.0	-177.7	-177.1	-178.2
C ₅ =C ₆	180.0	179.9	-179.9	-174.6	-174.3	-174.3
C ₆ -C ₇	180.0	180.0	180.0	176.6	179.4	176.4
C ₇ =C ₈	180.0	180.0	-179.9	-170.2	-173.7	-169.8
C ₈ -C ₉	180.0	180.0	180.0	175.0	177.4	175.2
C ₉ =N	180.0	180.0	180.0	-169.9	-169.8	-169.9

表 2 . 各種計算方法による C=N 伸縮振動波数値とその重水素化シフト（単位：cm⁻¹）

	レチナールシッフ塩基モデル			レチナール + 20 残基		
	Method I	Method II	Method IV	Method I	Method II	Method IV
ノーマル種	1640	1621	1635	1644	1643	1646
重水素化種	1623	1607	1624	1620	1621	1631
波数シフト	17	14	11	24	22	15

Gaussian03 により計算された波数値を標準的なスケール因子によりスケールした。

（スケール因子 HF 法：0.89；B3LYP 法：0.95；MP2 法：0.93）

【文献】

- 1) S. Masuda *et al.*, *J. Phys. Chem.*, **100**, 15328 (1996).
- 2) H. Luecke *et al.*, *J. Mol. Biol.*, **291**, 899 (1999).
- 3) T. Vreven and K. Morokuma, *Theor. Chem. Acc.*, **109**, 125 (2003).
- 4) T. Kluge *et al.*, *Biochemistry*, **37**, 10279 (1998).