

2A06 レチナール光受容体タンパク質の反応動力学に関する理論的研究

(京大福井センター) ○林 重彦

ロドプシンタンパク質はレチナール分子を発色団として持つ光受容体である。ロドプシンファミリーに属するタンパク質は、視覚や光センサーまたは光駆動型プロトンポンプ等の多岐にわたる機能を持つが、それら機能発現過程はすべてレチナールシッフ塩基発色団の光異性化反応によって開始される。初期過程であるその局所的な光化学反応が大域的なタンパク質の構造変化を引き起こし、それぞれの機能へとつながってゆく。ロドプシンタンパク質内におけるレチナールの光異性化反応は、溶液中のそれに比べ非常に高速であり高い選択性を持つ。例えば、高度好塩菌の紫膜に存在し光駆動型のプロトンポンプを担うバクテリオロドプシン(bR)中では、反応は 200~500 fs で完了し all-trans 型から 13-cis 型へ選択的に反応が進む。また視物質ロドプシン(Rh)中では 200 fs の反応速度で 11-cis 型から all-trans 型への選択的反応である。これらの特徴は高い光反応生成物の収率 (0.6~0.7) を与え、光受容体に求められる高い感受性を可能にしている。この超高速反応の動力学を調べるために、これまでに多くの時間分解分光法による研究が行われてきた。特に近年の発展により 10 fs を超える時間分解能を持つ測定が可能になり、この短時間の励起状態緩和過程に起こる spectral modulation 等の現象が明らかにされている[1,2]。しかしながら、この光化学反応を理解するためにはそれらの分光学的測定の背後にある分子動力学を明らかにする必要がある。

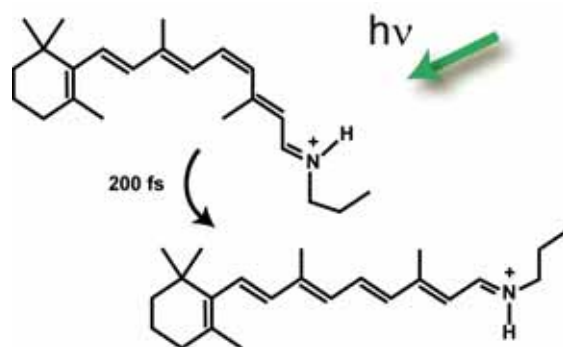


図 1: 視物質ロドプシン中におけるレチナールシッフ塩基の光異性化反応

本研究では、bR 及び Rh の初期過程に対して理論計算によるアプローチにより調べる。タンパク質中での化学反応過程を考える上での困難の一つは、化学反応が電子状態変化を含むため、従来広くタンパク質の分子シミュレーションで用いられている古典的な描像に基づく分子力場(MM)では記述することが出来ない事である。そのような化学反応の記述には電子状態計算(QM)を用いることが必要であるが、QM 計算は多大な計算コストを要求するためタンパク質のような非常に大きな分子への適用は限られている。これら QM 及び MM 法それぞれに現れる困難を解決するべく開発されたのがいわゆる QM/MM 法である。その手法は、化学反応に直接関与する比較的小さな領域を QM 法で、またその周りの大きなタンパク質部分を MM 法で取り扱い、それらの間の分子間相互作用を適切に考慮することによりタンパク質環境中での化学反応を記述する。

我々は非経験的分子軌道法を用いた QM/MM 法を基に、効率的な構造最適化の手法の開発や多電子状態間の遷移を含む分子動力学計算への拡張を通して、レチナール蛋白質の光異性化反応動力学を直接シミュレーションし、複雑な反応動力学の詳細を明らかにし高い反応速度及び選択性の分子機構を解明することを目的とする。まず CASSCF 法を用いた QM/MM 分子動力学計算を行い bR の光異性化反応過程を調べた[3]。その際、計算量の軽減のため、3つの二重結合を含むレチナールシッフ塩基のアナログ分子を QM 分子として、発色団の残りの

部分及びタンパク質部分を MM 領域として取り扱った。トラジェクトリーは基底状態の古典的分子動力学計算により得た 11 個の初期状態より計算した。またトラジェクトリーに沿って励起状態と基底状態の間の非断熱結合要素を計算し、単純な 2x2 のシュレディンガー方程式を用いて反応の遷移確率を計算した。

結果を以下に示す。まず反応の時定数はおよそ 180 fs であり非常に高速に反応が進む。次に反応生成物は 13-cis のみで高い選択性が保たれている。また反応は若干非コヒーレント的に進みそれぞれトラジェクトリーに対する異性化時間にある程度分布がある。これらの特徴は時間分解分光実験の結果とよく一致している。またタンパク質を除いた気相中でのトラジェクトリーも計算することにより、これらの特徴の多くにタンパク質環境が大きな役割を果たしていることを明らかにした。更に超高速時間分解吸収実験[1,2]で得られている特徴的なスペクトル変化を再現しその分子的起源を明らかにした。

我々は更に非経験的分子動力学法による計算を、Rh中のレチナールシッフ塩基の光異性化反応にも適用した。まず、岡田らのX線結晶構造[4]を初期構造としてQM/MM法により基底状態の構造を最適化した。構造最適化の際にはレチナールシッフ塩基全体、カウンターイオン残基であるGlu113 及び近傍の水分子をQM領域として取り扱いHF法を用いて計算した。その結果、タンパク質環境中では基底状態において光異性化反応の起こるC₁₁=C₁₂結合の二面角は20度程度振れており高い反応選択性の理由として挙げられる。また、C₆-C₇結合は60度近く強くねじれており、βイオン環とポリエン鎖の間の共役が分子内及びタンパク質環境からの相互作用により多少弱められていることがわかる。次に最適化された構造を出発点として、気相中におけるレチナールシッフ塩基分子の光異性化反応動力学を非経験的分子動力学計算により調べた。これにより、反応動力学に対するレチナールシッフ塩基分子固有の性質を明らかにすることができる。計算は、すべてのポリエン鎖部分(6つの共役二重結合)を含んだレチナールアナログ分子に対しCASSCF(12,12)法を用いて行った。

結果を以下に示す。まず、光異性化反応はC₁₁=C₁₂結合の周りの回転に対して起こり、またおよそ 200 fs の内に完了した。従って、タンパク質内の基底状態の構造が始状態であれば、タンパク質不在でも光異性化反応がスムーズに起こる。また基底状態で強くねじれていたC₆-C₇結合においては、励起状態過程でそのねじれが解消する方向に回転する運動が見られた。これはもともと基底状態では一重結合的であったものが電子励起にともない二重結合性を増し、ポリエン鎖の平面性を回復しようとすることに起因する。実際、励起状態と基底状態のエネルギー交差領域ではC₆-C₇結合の周りほとんど平面構造となる。C₆-C₇の回転はC₁₁=C₁₂結合周りの異性化の回転と相関して起こり、異性化反応を加速している一因となっていると考えられる。

[1] Ye, Gershgoren, Friedman, Ottolenghi, Sheves, and Ruhman, *Chem. Phys. Lett.* **314**, 429-434 (1999)

[2] Kobayashi, Saito, and Ohtani, *Nature* **414**, 531-534 (2001)

[3] Hayashi, Tajkhorshid, and Schulten, *Biophys J.* **85**, 1440-1449 (2003)

[4] Okada, Fujiyoshi, Silow, Navarro, Landau, and Shichida, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 5982-5987 (2002)