

4E06 量子生物学への SAC-CI 法によるアプローチ

(京大院工) 長谷川 淳也

はじめに

生命現象において量子論的な化学原理が顕わになる系は多く知られている。光が関与するものに限定しても光合成によるエネルギー生産、生物発光、光駆動イオンポンプ、視覚等の光センサー、DNA の損傷と光修復などが挙げられる。我々はこのような分子の励起状態が本質的に重要となる系に関心を持ち、SAC-CI 法を用いて研究を進めている。

SAC-CI 法は原子・分子の電子相関を扱う正確な理論として確立されている。理論構成の簡潔さや計算プログラムの柔軟性により同等レベルの理論と比較して大規模な分子に適用できる。SAC-CI プログラムは Gaussian03 を通じて公開している。最近の SAC-CI 法のプログラム開発の結果、より大規模な系での計算時間が短縮し応用性を高めることができた。これにより生体分子の理論分光として SAC-CI の有用性を高めることができた。生体内の化学反応過程において、分子の構造変化に伴い光吸収スペクトルが変化する例は多く知られており、構造と励起スペクトルの関係を直接的に研究できる理論計算（理論分光）の重要性は高いと考える。

また、開発により SAC-CI 法の解析的エネルギー勾配法についても計算時間を大幅に改善した。ポルフィリン・サイズの分子の励起状態・イオン化状態の構造最適化が可能になり、SAC-CI 法を生体分子のポテンシャル面に応用する展望が開けつつある。

1. Green Fluorescent Protein (GFP)とその mutant の励起エネルギーと構造

GFP はオワンクラゲに含まれる緑色蛍光タンパク質であり、分子生物学において広く用いられている。GFP とその mutant の分子構造と励起・蛍光エネルギーについて、それぞれ Fig. 1 と Table 1 に示す。SAC-CI 法の結果は実験値をよく再現し、BFP と CFP の構造を決定できた。

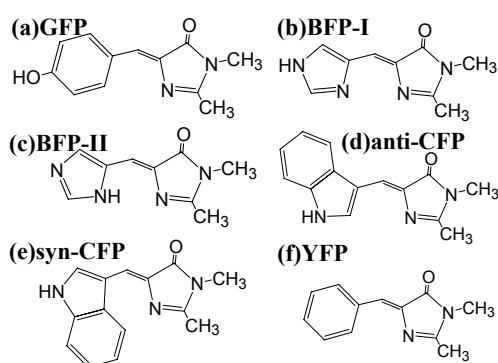


Table 1. GFP とその変異体の色素の励起・蛍光エネルギー

Molecule	Excitation energy (eV)		Fluorescence energy (eV)		
	SAC-CI		SAC-CI		
	Gas ^a	Protein ^b	Gas	Protein	
GFP	3.23	3.21	3.12	2.70	2.70 (青)
BFP-I	3.41	3.16		2.92	
BFP-II	3.11	3.22	3.25	2.77	2.78 (青)
syn-CFP	3.15			2.68	
anti-CFP	2.99		2.84	2.55	2.56 (紺)
YFP	3.33		3.44	2.81	2.81 (青)

Fig. 1 Structure of GFP chromophore and its mutants. ^aGas phase calculations. ^bElectrostatic effect is included by point-charge model.

また周辺アミノ酸残基も含んだ大規模な計算も行い、UV 光(3.2eV, 4.9eV)による GFP_{UV} への非可逆的な構造変化について、これまでに提案された機構を SAC-CI 計算により検証した。

2. Phytochrome の光化学 : Phytochromobiline (PΦB)色素の光異性化機構

植物の光センサーとして機能するフィトクロムは赤色・遠赤色光受容蛋白質であり、形態形成など植物の様々な生理反応に深く関わっている。フィトクロムには2つの異性体(P_r, P_{fr})が存在する。生理的に活性な P_r は赤色光(666 nm)により、不活性な P_{fr} に異性化し、逆に P_{fr} は遠赤色光(730 nm)により P_r に異性化する。これまでいくつかの光異性化機構が提案されたが、結晶構造は未だ得られておらず結論に至っていない。各異性体について SAC-CI 法により励起スペクトルを求め、実験結果と比較したところ以下のように異性体の構造を決定することができた。

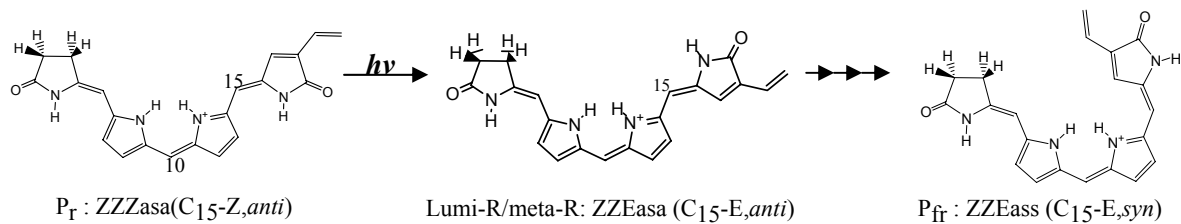


Fig. 2 SAC-CI 計算から決定された PΦB の光異性化過程における Pr, Lumi-R/mata-R, Pfr の構造。

3. レチナル蛋白質の励起状態と励起エネルギーのオプシン依存性

視物質ロドプシンに代表されるレチナルタンパク質は、周辺タンパク質(オプシン)によって吸収波長が大きく変化する(オプシンシフト)。この機構を解明するために多くの理論計算がなされてきたが、これまで実験の吸収ピークを再現するに至っていない。SAC-CI法によりレチナルの励起エネルギーを初めて定量的に再現できた。解析の結果、ブルーシフトの起源はレチナル近傍のアミノ酸(Rhの場合; グルタミン酸, bRの場合; アスパラギン酸)による負の静電ポテンシャルに因るものであった。レチナルのLUMOは負のポテンシャルが大きい箇所局在する。従ってタンパク質中ではLUMOが特異的に不安定化し、励起エネルギーがブルーシフトすることが分かった。

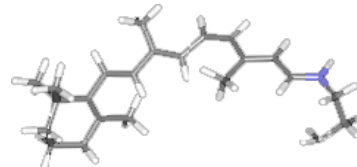


Fig.3 レチナルの構造

Table. The first excited state of the retinal proteins calculated by the SAC-CI method.

System		SAC-CI		Exptl.	CASPT2 ^a	MRMP2 ^b
		E _{ex} (eV)	Osc.(au)	E _{ex} (eV)	E _{ex} (eV)	E _{ex} (eV)
Rhodopsin	Gas	1.72	0.53		2.73	
	Protein	2.55	0.80	2.49	2.78	
Bacteriorhodopsin	BR-state					
	Gas	1.51	0.75			2.05
	Protein	2.22	1.01	2.18		2.75
K-state	Gas	1.41	0.69			
	Protein	1.89	0.88	2.03		
KL-state	Gas	1.44	0.70			
	Protein	2.08	0.94	2.10		
Sensoryrhodopsin	Gas	1.49	0.74			
	Protein	2.53	1.18	2.49		

^a J. Phys. Chem. B 104 (2000) 10678-10691, ^b J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 6868-6869.

4. 励起ポルフィリン化合物の構造最適化：スペクトロスコーピーからポテンシャル面へ

SAC-CI 法の解析的エネルギー勾配法を励起ポルフィリン化合物(FBP(Free-base porphrin, FBTA(Tetraza)P, MgP)の構造決定に応用した。多様な物性に関するポルフィリンの 4-orbital 励起(Q,B-band)は、励起状態における構造変化が一般に非常に小さく、同様にストークスシフトについても非常に小さい値が算出された。これは、4-orbitals が分子上に広く非局在化し、軌道の結合/反結合性が強く反映されないことに起因すると考えられる。他方で 4-orbital 以外の軌道が関与する励起状態(1^1B_{3g})では構造緩和エネルギーは大きい(0.84eV)。このような励起状態の構造緩和の性質は生体内励起エネルギー移動、電子移動の高効率性の一因になると考えられる。即ち 4-orbital(next-HOMO, HOMO, LUMO, next-LUMO)は、構造上よりは、励起物性において重要な役割を果たすと考えられる。

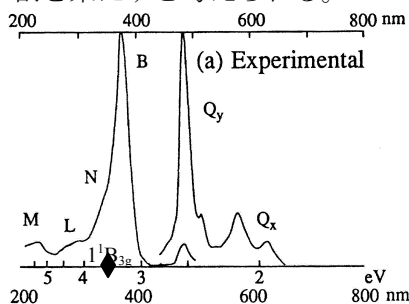


Fig.4 FBP の光吸収スペクトル

Table. Vertical excitation energy, adiabatic excitation energy, and fluorescence energy of the singlet states of free-base porphrin

State	$1^1B_{1u}, Q_x$		$1^1B_{2u}, Q_y$		$2^1B_{1u}, B$		1^1B_{3g}		$2^1B_{2u}, N$	
	SAC-CI	Exptl.	SAC-CI	Exptl.	SAC-CI	Exptl.	SAC-CI	SAC-CI	Exptl.	
Symmetry	D _{2h}		D _{2h}		D _{2h}		D _{2h}		D _{2h}	
Vertical EE ^a	1.80	1.96	2.16	2.31	3.56	3.33	3.57	3.69	3.65	
Adiabatic EE ^b	1.79		2.15		3.52		3.15		3.68	
Fluorescence E ^c	1.77		2.14		3.46		2.73		3.67	
Stokes shift	0.03		0.02		0.10		0.84		0.02	

^a Vertical excitation energy in eV. ^b Adiabatic excitation energy in eV. ^c Fluorescence energy in eV.