

4A05

レチナルタンパク質の Color tuning mechanism; SAC-CI and QM/MM study

(京大院工¹, 京大院理², 京大福井セ³) 藤本和宏¹, 林重彦², 長谷川淳也¹, 加藤重樹², 中辻博^{1,3}

【序】 視物質ロドプシン(Rh)やプロトンポンプの機能を有するバクテリオロドプシン(bR)に代表されるレチナルタンパク質は、色素レチナル(PSB, Fig. 1)の光異性化により機能が開始される光受容膜タンパク質である。これらはいずれも同様の色素を有しながら、周辺タンパク質(オプシン)の影響で吸収波長が大きく変化することが知られている。この機構を解明するために多くの理論的研究がなされてきたが、これまで実験の吸収ピークの系統的な再現には至っていない。これについて、次の4つの理由が考えられる。) 定量的電子相関理論を用いた励起状態の計算を行うにはレチナルの分子サイズが大き過ぎるため、本来のレチナル構造とは異なる粗悪な計算モデルを使わざるを得なかったこと、) タンパク質中での構造最適化が困難なことから、励起状態の計算に X 線構造がそのまま用いられてきたこと、) 構造最適化における計算方法(QM 領域)の問題によって、得られたレチナル π 鎖の結合交替が強くなり過ぎていたこと、) オプシンの影響は点電荷による静電相互作用しか含めていなかったため、レチナルと対アミノ酸の間の量子的相互作用の影響が考慮されていなかったこと。これまで我々は、)と)の項目を中心に研究を行ってきた[1]。まず、QM/MM 法を用いることでタンパク質中の構造最適化に成功し、さらに、励起状態の計算において大きな系にも適用可能な SAC-CI 法を用いることで、レチナル色素を本来の構造のまま扱うことに成功した。そこで本研究では、これまでの)と)の項目に加え、)と)の項目にも着手し、3種のレチナルタンパク質(ロドプシン, Rh; バクテリオロドプシン, bR; センサリーロドプシン II, sRII)に関してこれまで理解されていなかった Color tuning 機構の起源を考察した。

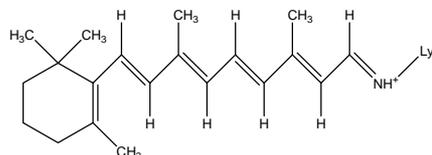


Fig. 1 Retinal structure.

【結果】 これまで、構造最適化における計算方法とレチナル π 鎖の結合交替の関係について多くの知見が得られていない。そこで、我々は4種類の計算方法(HF, B3LYP, MP2, AM1)で得られた気相中での最適化構造を用いて、レチナル π 鎖の結合交替の比較を行なった(Fig. 2)。その結果、HF 構造や AM1 構造は、B3LYP 構造や MP2 構造と比べて結合交替が強くと現れることが分かった。この結果はレチナルの π 鎖構造に電子相関が大きく影響を与えることを示しているため、HF や AM1 は構造最適化に適さないことが分かった。したがって、オプシン中での構造最適化(QM/MM 法)においても、QM 部分に DFT(B3LYP)を用いることにした。次に、これら4種類の構造を用いて SAC-CI 法による励起エネルギーの計算を行なった。その結果、 π 鎖の結合交替が強くなると、励起エネルギーは大きく青方シフトすることが分かった(Table 1)。

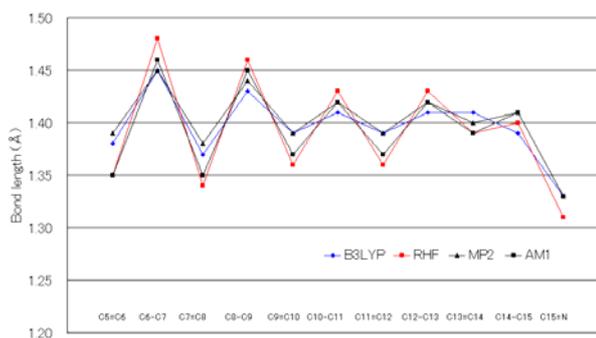


Fig. 2 Bond length on π -chain (Å).

これは、結合交替が強まることで HOMO の安定化と LUMO の不安定化が起こり、HOMO-LUMO ギャップが増大することが原因であった。

さらに、オプシン中におけるレチナール π 鎖の結合交替が気相中と比べてどのように変化するかを調べた(Fig. 3)。その結果、オプシン中の結合交替は気相中のものより強くなることが分かった。これは、気相中ではシッフベース付近に非局在化していた陽電荷がオプシンの静電相互作用の影響で局在化することが原因であった。さらに、タンパク質中での結合交替の変化は励起エネルギーの青方シフト(0.12eV)を引き起こした(Table 1)。これらの結果より、オプシンの静電相互作用は、レチナール π 鎖の結合交替を強めることで励起エネルギーの制御(青方シフト)をしていることが分かった。

レチナールシッフベースと対アミノ酸の間にある量子的相互作用の影響を調べるため、レチナール色素だけでなく対アミノ酸と水分子も含めた計算モデル(活性部位, Fig. 4)を用いて励起状態の計算を行なった(Table 2)。その結果、3種類全てのタンパク質において実験値を精度よく再現することができた。また、活性部位を計算モデルにしたときの励起エネルギーは、レチナール色素のみを計算モデルとして扱ったときより、大きく青方シフト (Rh; 0.39eV, bR; 0.43eV, sRII; 0.36eV)することが分かった。これは、励起エネルギーの再現には、オプシンの静電相互作用のみでなく活性部位の量子的な相互作用も考慮する必要があることを示している。また、2つの計算モデル(レチナールだけの状態と活性部位)の全エネルギーを基底状態と励起状態のそれぞれで比較して安定化エネルギーを求めてみた。その結果、活性部位の量子的相互作用による青方シフトは基底状態の特異的な安定化に因ることが分かった。さらに、HF/CIS による同様の計算では SAC/SAC-CI と比べて安定化エネルギーが小さいことから、活性部位における基底状態の安定化は動的電子相関に因ることが分かった。

Table 1 SAC-CI excitation energies.

Geometry	Main Config.	E_{ex} (eV)	f (au)
	$ C > 0.3$		
RHF in vacuo	0.92(H \rightarrow L)	1.44	0.91
AM1 in vacuo	0.92(H \rightarrow L)	1.37	0.81
MP2 in vacuo	0.92(H \rightarrow L)	1.19	0.97
B3LYP in vacuo	0.92(H \rightarrow L)	1.18	1.01
B3LYP in opsin	0.92(H \rightarrow L)	1.30	0.91

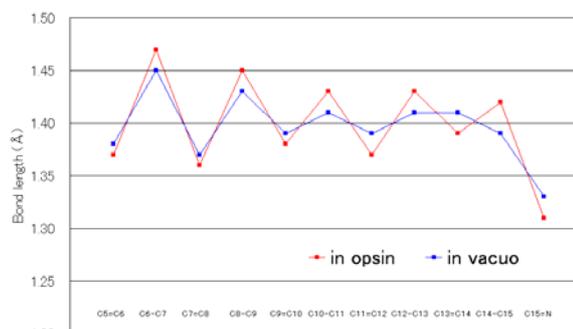


Fig. 3 Bond length on π -chain (Å).

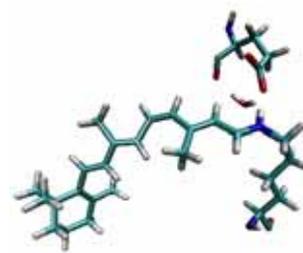


Fig. 4 Retinal active site.

Table SAC-CI excitation energies (eV).

Protein	Environment	SAC-CI			Exptl. (eV)
		Main Config. ($ C > 0.3$)	f (au)	E_{ex} (eV)	
Rh	in vacuo	0.91(H \rightarrow L)	0.63	1.36	-
	in opsin	0.94(H \rightarrow L)	1.03	2.45 (2.06)	2.49
bR	in vacuo	0.92(H \rightarrow L)	0.91	1.30	-
	in opsin	0.92(H \rightarrow L)	1.24	2.33 (1.90)	2.18
sRII	in vacuo	0.92(H \rightarrow L)	0.89	1.31	-
	in opsin	0.94(H \rightarrow L)	1.42	2.53 (2.17)	2.49