

2A17

レチナールタンパク質の Color-tuning mechanism: SAC-CI and QM/MM study II

(京大院工¹, 京大院理²) 藤本和宏¹, 林重彦², 長谷川淳也¹, 加藤重樹², 中辻博¹

【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ールタンパク質は、色素レチナール(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

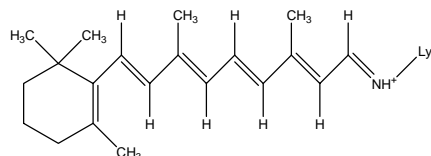


Fig. 1. Retinal structure.

に多くの研究がなされてきた。様々な理論的研究によっても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ールの分子サイズが大き過ぎるため、本来のレチナー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、得られたレチナール 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、レチナー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。まず)と)の項目に対し、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、レチナール色素を本来の構造のまま扱うことに成功した[1]。iii)に対し、レチナール π 鎖の構造を記述するためには動的電子相関が重要であることを明らかにし、DFT(B3LYP)を用いることでその問題を解決した[2]。さらに iv)に対してはレチナールの対イオンも量子力学的に扱うことで、点電荷近似では表現できない水素結合などの効果を取り込むことに成功した[2]。以前の研究では、これら4つの項目に基づいて、3種のレチナールタンパク質(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)に関する Color-tuning 機構の起源を考察した。本研究ではこの適用範囲を錐体視物質にも広げ、ヒトの青色視物質(HB)とロドプシン(Rh)の Color-tuning 機構の違いに焦点を当てた。

【結果】 錐体視物質の X 線構造は未解明のままであるため、本研究では Homology-Modeling [3]を研究の出発点とした。レチナールタンパク質は共通に7回膜貫通型の構造を有することと、HB と Rh のアミノ酸配列の高い相同性(41%)を考慮すると、このモデルの採用は妥当だと考えられる。Fig. 2 は HB と Rh における QM/MM(B3LYP/AMBER99)最適化構造 (Active site)を示す。両者の構造は非常に似ているが、HB の π 鎖の結合交替は Rh と比べて若干(0.01Å)強いことが分かった。この理由を調べるために、レチナール上に生成されるオプシンの静電ポテンシャル(ESP)を求めた

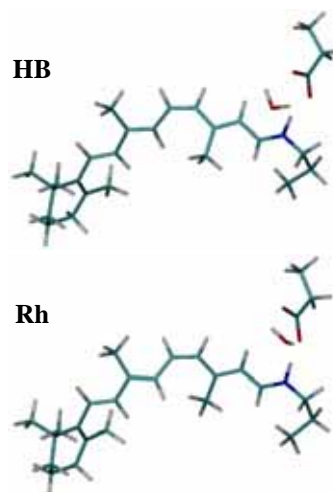


Fig. 2. QM/MM refined structures.

(Fig. 3)。その結果、HB は Rh と比べて、大きな ESP の勾配を有することが分かった。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し、また静電相互作用が大きいほど局在化の程度は大きくなる。これより、Fig. 3 で示されている両者の ESP の違いがレチナールの結合交替の仕方に影響を与えることが分かった。

次に、QM/MM 法による最適化構造を用いて、SAC-CI 計算を行なった(Table 1)。その結果、0.15 eV の誤差で実験値を再現することに成功した (2.85 eV)。また、上述のように、HB においても対イオンからの量子的相互作用(水素結合など)の効果が励起エネルギーの定量的な再現には不可欠であることが分かった。この結果に基づいて、HB と Rh の Color-tuning 機構の起源を探った。Fig. 4 は、Rh に対する HB の Color-tuning 機構を 3 つの項目で示している。レチナールの構造の違いや対イオンとの量子的相互作用の効果は両者で大差がないのに対し、オプシンからの静電相互作用の影響は非常に大きいことが分かった。この静電相互作用の違いは Fig. 3 に示される ESP の違いに起因することが分かる。さらに、対イオンのみから生成される ESP を調べてみたところ(Fig. 3)、HB と Rh の対イオンからレチナール上へ生成される ESP は同様な値を示すことが分かった。この結果は、両者の Color-tuning 機構の違いは対イオンとの相互作用に起因するのではないことを示しており、オプシン環境の重要性を改めて示す内容となった。

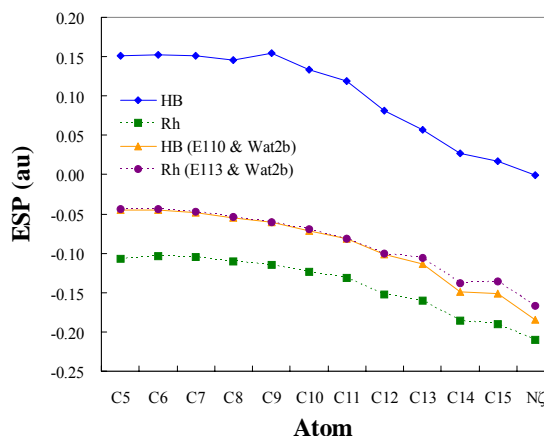


Fig. 3. ESP from opsin environment.

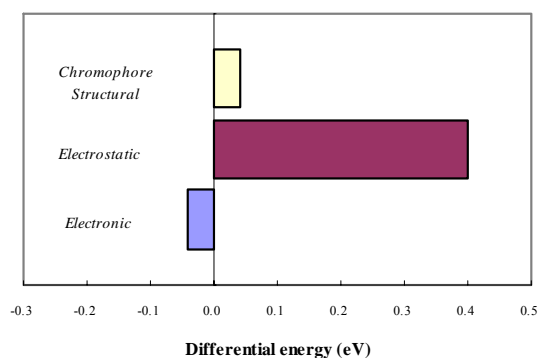


Fig. 4. Color-tuning mechanism from Rh to HB.

Table 1. SAC-CI absorption energies in the HB and Rh^a.

Protein	Environment	QM size	SAC-CI			Exptl. (eV)
			Main Config. (C >0.3)	f (au)	E _{ex} (eV)	
HB	in opsin	AS	0.94 (H → L)	1.16	2.85	2.99
		RET	0.93 (H → L)	0.97	2.50	
	bare	RET	0.91 (H → L)	0.58	1.40	-
Rh	in opsin	AS	0.94 (H → L)	1.03	2.45	2.49
		RET	0.93 (H → L)	0.88	2.06	
	bare	RET	0.91 (H → L)	0.63	1.36	-

^a Ref. [2]

References

- [1] K. Fujimoto, J. Hasegawa, S. Hayashi, S. Kato, H. Nakatsuji, *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *414*, 239.
- [2] K. Fujimoto, S. Hayashi, J. Hasegawa, H. Nakatsuji, *J. Am. Chem. Soc.* to be submitted.
- [3] R. E. Stenkamp, S. Filipek, C. A. G. G. Driessen, D. C. Teller, K. Palczewski, *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1565*, 168.