Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

高精度量子化学計算による光生物学へのアプローチ：レチナールタンパク質の光吸収・励起エネルギー移動機構

藤本, 和宏

(Citation)
生物物理,51(3):140-143

(Issue Date)
2011-05-25

(Resource Type)
journal article

(Version)
Version of Record

(Rights)
Copyright (c) The Biophysical Society of Japan.

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/90001879

生物物理 51（3），140-143（2011）

理論／実験 技術

高精度量子化学計算による光生物学へのアプローチ：レチナールタンパク質の光吸収・励起エネルギー移動機構

藤本和宏
神戸大学大学院システム情報学研究科

1. はじめに

理論・計算の立場から光生物学の研究を試みる際の大きな問題点は次の2点である．

1，分子の正確な励起状態をどう求めるか？

2，タンパク質環境をどう記述するか？

それぞれの問題に対して有効な手段となるのが，SAC-CI（symmetry-adapted cluster-configuration interaction）法[1]とQM/MM（quantum mechanics/molecular mechanics）法[2]である．

本稿では，これらの手法の適用により明らかとなったレチナールタンパク質の分子機構を2つ紹介する．前半ではヒトの色覚を司る錐体視物質のカラー・チューニング機構を，後半ではキサントロドプシンで起こる励起エネルギー移動機構を取り上げる．ここで，カラー・チューニングとはタンパク質環境の違いによって分子の吸収波長が変化する現象を指し，励起エネルギー移動とはある分子の吸収した光エネルギーが別の分子に移動する現象を指す．

どちらもレチナールタンパク質の光吸収に関する話題であるが，担当する役者が異なることに注意しながら読んでいただきたい．前半の錐体視物質ではタンパク質の形成する静電ポテンシャルが，後半のキサントロドプシンではカロテノイド分子の配置がそれぞれの機構に大きく寄与している．

また，本稿の研究は以下の2つの手順に従うことも注意しながら読んでいただきたい．

1，励起状態計算の実行による実験値の再現

2，機構の解析

本題に入る前に，まずはSAC-CI法とQM/MM法についての説明から始めよう．

2. SAC-CI法とQM/MM法

SAC-CI法はNakatsujiによって考案された電子状態理論（量子化学の理論）である[1]．分子の基底・励起状態を精度よく記述できる方法であるため，これまでに数多くの分子に対してSAC-CI法を用いた研究が行われてきた．その中でも分光学的研究は特に多く存在し，実験では困難であったスペクトルの帰属に成功するなど，同法の威力が大いに発揮されている．正確な波動関数は各状態間（基底状態や励起状態）の“直交性”および“ハミルトニアン直交性”を満たす必要があるが，SAC-CI法はこの条件をクリアしていることを強調しておく．またプログラム上における特徴としては，摂動選択法という効率的な計算手法の採用があげられる．これにより，計算コストの大幅な削減を実現している．

QM/MM法[2]は量子化学と分子力学のハイブリッド法であり，タンパク質環境を考慮する上で有効な手段である．フラグメント分子軌道法に代表されるように，近年，タンパク質全体に対する量子化学計算の適用がさかんに行われているが，タンパク質の構造最適化を行うには現時点ではハードルが高い．これに対し，QM/MM法では，タンパク質環境において本質的に重要となる相互作用を量子化学計算に取り入れて（つまり，タンパク質からの静電ポテンシャルをFock演算子に含めて）それ以外を古典力学的に取り扱うため，同法を用いてタンパク質の構造最適化を行うことが可能となる．励起状態の計算に対してもQM/MM法は適用可能であり，以下で紹介する励起エネルギー（基底状態と励起状態の間におけるエネルギー差）の計算は，QM部分にSAC-CI法を用いて行われている．

3. 錐体視物質のカラー・チューニング

ヒトの網膜には，色覚を司る3種類の錐体視物質が存在する．それぞれが赤・緑・青色光の吸収を担当するため，ヒト赤色（HR）・緑色（HG）・青色（HB）錐体視物質とよばれている[3]．

Quantum Chemical Approaches to Photobiology: Mechanisms of Color Tuning and Excitation-Energy Transfer in Retinal Proteins
Kazuhiro J. FUJIMOTO
Graduate School of System Informatics, Kobe University

HR，HG，HB はすべてレチナールタンパク質である．レチナールタンパク質における光吸収を直接担っているのは，タンパク質中に存在するレチナール色素（RET）である．したがって，3 つの錐体視物質における別々の色の光吸収は，すべて RET により行われている．これは，RET の吸収波長が RET を取り囲むタンパク質（オプシン）環境によって変化することを意味する．こうした現象は，カラー・チューニングとよばれている．本研究では，カラー・チューニングの機構を解明することを試みた．

ここで扱う錐体視物質のタンパク質構造は実験で解明されていない．そこで，本研究ではホモロジーモデル（タンパク質の既知構造とアミノ酸配列の類似性を利用した立体構造モデリングの手法）を採用した．ホモロジーモデルに対しポアソン–ボルツマン法（統計的手法）による荷電アミノ酸のプロトン化状態の評価を行い，QM/MM 法によるタンパク質全体の構造最適化を行った．こうして，3 つの錐体視物質のタンパク質構造を作成した．

これらの構造に対して SAC-CI 法による励起状態計算を行った．その結果，0.05 eV の RMS 誤差で励起エネルギーの実験値を再現（HB; 2.94, HG; 2.32, HR; 2.08 eV）することに成功した[4]．

これらの結果に基づいてカラー・チューニング機構の物理的起源を探った．3 種類の各錐体視物質に対し，3 つの観点から励起エネルギーの分割を試みた．3 つの観点とは，RET の構造の捩れの効果，オプシンの静電効果，対アミノ酸（グルタミン酸アニオン）の量子効果である．その結果，オプシンの静電効果が 3 つの錐体視物質の励起エネルギーに最も大きな寄与をすることがわかった（**図 1** の濃紫）．HB では RET の構造の捩れも大きく寄与するが（**図 1** の青），カラー・チューニング機構の主因ではなかった．そこで，本稿ではオプシンの静電効果のみ取り上げる．

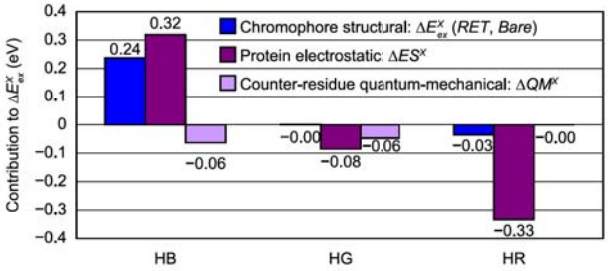

図 1
励起エネルギーに寄与する 3 つの効果（RET 構造の捩れの効果，オプシンの静電効果，対アミノ酸による量子効果）（eV）．ロドプシン（Rh）を基準値としたときのエネルギー差で表示してある．（電子ジャーナルではカラー）

オプシンの静電効果の理解のため，（i）RET の励起状態の性質と（ii）オプシンが形成する静電ポテンシャル（ESP）を説明しよう[5]．（i）RET の励起状態に関しては，SAC-CI 波動関数により**最高被占軌道（HOMO）から最低空軌道（LUMO）**へ電子が 1 つ飛び移った性質（HOMO-LUMO 遷移）であることがわかった．これを視覚的に理解するために，**図 2** に示す HOMO と LUMO の分布を見てみよう．HOMO は RET の左側（β イオノン環）に，LUMO は右側（シッフ塩基）に分布することがわかる．このように，分布に偏りがある軌道への電子遷移は，RET の分子内で起こる電荷移動を意味する．（ii）これを踏まえた上でオプシンの ESP を見てみよう．この ESP とはオプシンが RET 上に形成するものであり，RET が形成する ESP ではないことに注意してほしい．**図 2** に示す通り，オプシンが形成する ESP は，LUMO が分布する領域（右側）において著しく負に大きくなっていることがわかる．

このような右肩下がりの ESP は RET の分子軌道にどのような影響を与えるのだろうか？　それは，LUMO の軌道エネルギー準位の特異的な不安定化である．電子は負電荷を有するため，負の ESP は HOMO と LUMO の軌道エネルギーをどちらも不安定化させるが，右肩下がりの負の ESP は HOMO よりも LUMO を大きく不安定化させるのである．以上のことから，オプシン非存在下と比べ，オプシン存在下において RET の HOMO と LUMO の軌道エネルギー差（HOMO-LUMO ギャップ）は大きくなる．これが，オプシンの静電効果によって RET の励起エネルギーが増大する機構である．

では，本題に戻り，3 つの錐体視物質の励起エネルギーの差はどこから生じるのだろうか？　それは，3 種類のオプシンの ESP が引き起こす LUMO の不安

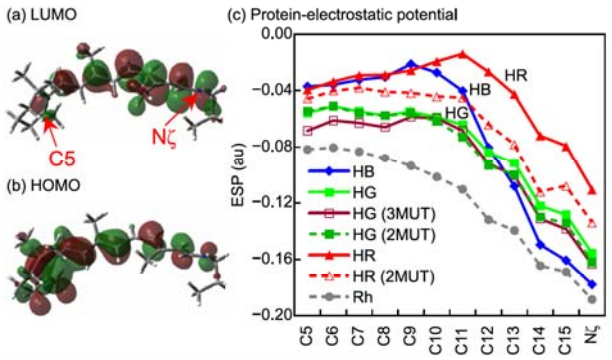

図 2
RET の（a）LUMO と（b）HOMO．（c）オプシンが RET の π 共役鎖に形成する ESP．C5 は β イオノン環側を，Nζ はシッフ塩基側を表す．（電子ジャーナルではカラー）

定化の程度の差から生じるのである．**図 2** に示す通り，ESP の右肩下がりの度合は，HR<HG<HB の順に大きくなることがわかる．その結果，LUMO の不安定化は HB で最も大きく，HR で最も小さくなる．したがって，HOMO-LUMO ギャップは HB で最も大きく，HR で最も小さくなる．こうして励起エネルギーに差が生じるのだ．以上より，オプシンの静電効果（ESP）の違いが引き起こす錐体視物質のカラー・チューニング機構を理解できた．

次の疑問は，3 種類の錐体視物質の間でどのアミノ酸が静電効果の違いを生むのか？，である．そこで，静電エネルギーを定義し，各アミノ酸の寄与を解析した[4]．その結果，錐体視物質のアミノ酸配列に特異的な 10 個のアミノ酸と Cl^- イオンが静電効果に大きく寄与することがわかった（**図 3**）．更なる解析の結果，特に OH 基をもったアミノ酸が重要であることがわかった．詳細は省くが，RET に対する OH 基の向きが，各錐体視物質における静電効果の違いを生み出す主因であることを突き止めた[5]．

4. キサントロドプシンの励起エネルギー移動

ここまでは，オプシンの ESP が RET の光吸収をどう調節するか説明した．ここからは，RET 以外の分子の利用による光吸収の話題に移る．

レチナールタンパク質の 1 種，キサントロドプシン（xR）は，光吸収を担う分子として RET の他にサリニキサンチン（SXN）（カロテノイド分子の 1 種）を有している（**図 4**）．SXN の吸収波長は RET の吸収波長と異なるため，SXN の利用によりタンパク質全体で吸収可能な光の波長領域を大幅に広げることが可能となる[6]．

SXN で吸収された光（励起エネルギー）は RET へ渡される．こうした現象は励起エネルギー移動（EET）とよばれる．xR 中の EET において，励起エネルギーを渡す SXN をドナーとよび，励起エネルギーを受け取る RET をアクセプターとよぶ．本研究では，xR における EET 機構の解明を試みた．

EET の理論的研究では，擬クーロン相互作用（PCI）とよばれる電子的相互作用の積分を計算する必要がある．大ざっぱにいうと，PCI の大きさは EET が起こるかどうかの指標と見なせる．従来の研究では，この積分を直接行わない双極子・双極子（dd）近似が多用されてきた．dd 近似は効率的な計算手法であるが，その適用範囲は，“系のドナーとアクセプター間の距離がそれらの分子サイズと比べて大きい場合”のみに限られている．

xR に対して dd 近似は有効ではない．なぜなら，SXN や RET の分子サイズ（～36 Å）と比べ，SXN と RET の間の距離（12 Å）が近いためだ．実際に dd 近似で SXN と RET の間における PCI を計算したところ（732.6 cm^{-1}），実験値（160-210 cm^{-1}）よりも過大評価してしまう結果となった．

dd 近似の問題点を克服するために，筆者は TDFI（transition-density-fragment interaction）法を考案した[7]．TDFI 法は，電子遷移密度（SAC-CI 法や時間依存密度汎関数法により計算可能）を用いた PCI の計算手法である．TDFI 法のプログラムでは，高精度に PCI を求められるよう，原子軌道の 2 電子積分および DFI 法[8] を採用した．この TDFI 法を使って PCI を計算した結果（216.2 cm^{-1}），実験値を 6-56 cm^{-1} の誤差で再現することに成功した．

PCI の再現に成功したため，次に，RET に対する SXN の配置が PCI の大きさに与える影響を調べた．まず，オイラー角を用いて xR のタンパク質周辺に人工的な SXN の配置を発生させ（タンパク質表面で SXN を 3 次元回転させ，360 個の最適な配置を求め），次にこれらの構造に対して PCI を計算した（**図 5**）．その結果，天然の SXN 配置（$\theta_z = 0$ 度）が最も大きな PCI を与えることがわかった（EET 効率：40%）．2 番

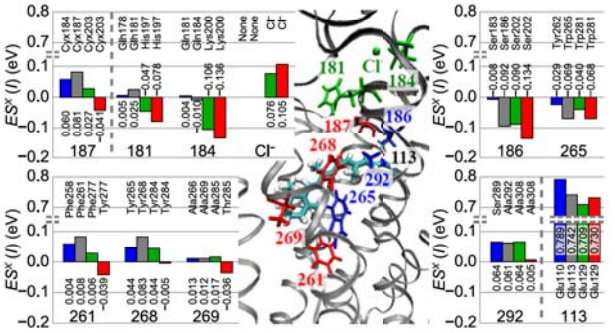

図 3
カラー・チューニングを担うアミノ酸とその寄与．赤，緑，青，灰色のグラフはそれぞれ HR，HG，HB，Rh に対応する．配列番号は Rh を基準とする．（電子ジャーナルではカラー）

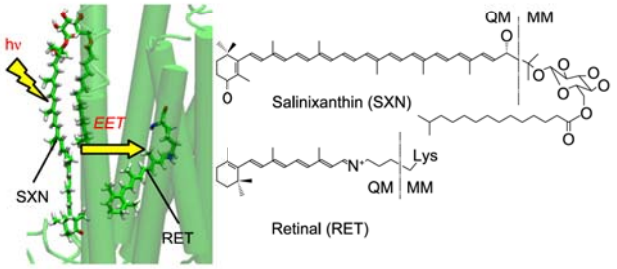

図 4
xR で起こる SXN から RET への EET．（電子ジャーナルではカラー）

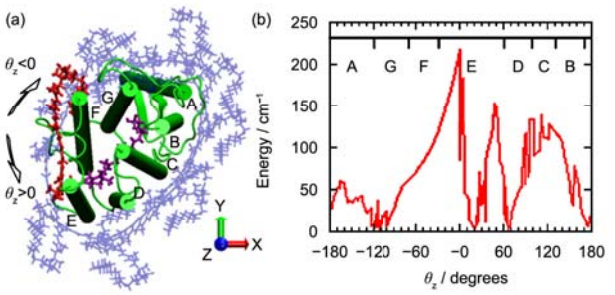

図 5
(a) 人工的に生成させた SXN の配置．12 個の配置のみを示す（薄紫）．(b) これらの配置に対する PCI 値．A-G のラベルは xR の 7 本の α ヘリックスを示す．（電子ジャーナルではカラー）

目に大きな PCI は 48 度のときの 153.3 cm^{-1}（EET 効率：25%）であるが，これは天然のとき（0 度）と比べて 63 cm^{-1} 小さい値であった．以上より，天然の SXN は大きな PCI（高い EET 効率）を与えるように配置されていることがわかった．

図 5 からわかる通り，SXN 配置の違いは PCI の値を大きく変化させる．小さな PCI しか与えない SXN 配置の場合，SXN が吸収した光のエネルギーは RET へ渡りにくい．したがって，SXN があるからといって EET が起こるとは限らないことがわかる．

アーキロドプシン 2（aR2）は xR と同様にカロテノイド（22B）を有するレチナールタンパク質だが，xR のような EET 機能をもたない[9]．xR と aR2 における EET 機能の有無の原因を調べるため，xR 中の SXN を aR2 中の 22B 配置に真似て配置させ，PCI 計算を試みた．その結果，5.9 cm^{-1} という非常に小さな値が得られた（EET 効率：0.05%）．つまり，22B を使用せずとも SXN 配置を 22B 配置に変えるだけで，aR2 のような EET 機能がない状態を xR から再現できたのである．現段階では“aR2 中での 22B の役割は何か？”という疑問には答えられないが，少なくともカロテノイド配置は EET 機能の有無にかかわる大きな因子であることがわかった．

6. おわりに

本稿では，高精度量子化学計算から明らかとなったレチナールタンパク質のカラー・チューニング機構と EET 機構について紹介した．方法論や機構の詳細に関しては原著論文を参照していただきたい．また，後半に述べた TDFI 法は CD スペクトル計算に対しても有効な手法であることを付け加えておく[10]．

本稿では，タンパク質のゆらぎの効果については触れなかった．タンパク質のゆらぎは，RET などの色素の励起状態の性質（光物性）にどのくらい影響を与えるのだろうか？（たとえば，われわれが高熱を出したとき錐体視物質の吸収波長は大きく変化するのか？）本稿で紹介した方法論により高精度で電子状態を求めることが可能となったため，今後はタンパク質の光物性に対するゆらぎの効果を定量的に求めることが必要だと考えている．

謝　辞

本稿で紹介した研究は，長谷川淳也博士，林重彦博士，中辻博名誉教授，および Weitao Yang 教授との共同研究によるものです．故加藤重樹教授からは研究の場をいただきました．各氏に感謝致します．また日本学術振興会による本研究への支援に感謝致します．

文　献

1) Nakatsuji, H. (1978) Chem. Phys. Lett. **59**, 362-364.
2) Warshel, A., Levitt, M. (1976) J. Mol. Biol. **103**, 227-249.
3) Shichida, Y., Imai, H. (1998) Cell. Mol. Life Sci. **54**, 1299-1315.
4) Fujimoto, K. *et al.* (2008) Chem. Phys. Lett. **462**, 318-320.
5) Fujimoto, K. *et al.* (2009) Bull. Chem. Soc. Jpn. **82**, 1140-1148.
6) Balashov, S. P., Lanyi, J. K. (2007) Cell. Mol. Life Sci. **64**, 2323-2328.
7) Fujimoto, K. J., Hayashi, S. (2009) J. Am. Chem. Soc. **131**, 14152-14153.
8) Fujimoto, K., Yang, W. (2008) J. Chem. Phys. **129**, 054102.
9) Yoshimura, K., Kouyama, T. (2008) J. Mol. Biol. **375**, 1267-1281.
10) Fujimoto, K. J. (2010) J. Chem. Phys. **133**, 124101.

藤本和宏

藤本和宏（ふじもと　かずひろ）
神戸大学大学院システム情報学研究科講師
2007 年京都大学大学院工学研究科博士課程修了．博士（工学）．デューク大学，京都大学でのポスドクを経て 11 年より現職．
研究内容：生物量子化学
連絡先：〒 657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲台町 1-1
E-mail: fujimoto@ruby.kobe-u.ac.jp

理論／実験 技術