

氏 名	ふじ 藤 本 和 宏
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2762 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	工 学 研 究 科 合 成 ・ 生 物 化 学 専 攻
学位論文題目	Quantum chemistry studies on the functions of some photobiological molecules (光生物分子の機能に関する量子化学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 辻 博 教 授 青 山 安 宏 教 授 北 川 進

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、光センシングや生物発光において代表的な光生物分子であるレチナール蛋白質、フィトクロム、GFP (Green Fluorescent Protein) の励起状態の電子構造と生物活性におけるメカニズムについて、SAC-CI (Symmetry-Adapted Cluster-Configuration Interaction) 法を用いて行った研究についてまとめたものであり、3部からなっている。

第1部は3章から構成されており、視覚やイオンポンプとして重要である各種レチナール蛋白質について研究した結果について述べている。様々な波長の光をセンシングできるレチナール蛋白質がこれまで知られているが、それらの光吸収波長を制御する機構(カラーチューニング・メカニズム)については未解明であった。

第1章では、電子状態理論と分子力学法を組み合わせたQM/MM法を用いて、ロドプシン、バクテリオロドプシン、センサーロドプシンにおけるレチナール蛋白質の構造を決定し、SAC-CI法を用いて励起状態の計算を行っている。その結果、これらのレチナール蛋白質の光吸収スペクトルに関する実験結果を高い精度で、かつ系統的に再現することに初めて成功した。これにより種々のレチナール蛋白質についてのQM/MM構造の妥当性およびSAC-CI法の高い精度と信頼性について確認している。

第2章では、各種のレチナール蛋白質の励起状態について、カラーチューニングのメカニズムを詳細に解析している。SAC-CI波動関数を解析した結果、レチナール色素の励起状態は分子内電荷移動の性質を持つので、周辺の静電ポテンシャルの影響に大変敏感であることが分かった。更に励起エネルギーを分析した結果、レチナール蛋白質はおもにこの性質を利用してクーロン相互作用により遷移エネルギーを制御していることが明らかになった。センサーロドプシンとロドプシンについて、蛋白質による静電ポテンシャルをバクテリオロドプシンと比較すると、色素のシッフ塩基近傍の静電ポテンシャルが負に大きくなっており、励起エネルギーのブルーシフトに影響を及ぼしていることが分かった。ロドプシンにおいてはこの静電効果の他に色素の構造歪も同様にブルーシフトに影響していることが示された。また、色素近傍の荷電アミノ酸による量子力学的効果を含めると遷移エネルギーは増大し、レチナール分子の π 系の結合交替を正確に記述すると遷移エネルギーは減少し、いずれも実験結果を再現するのに重要なファクターであることが示された。

第3章では、ヒト網膜中の青色光受容体におけるカラーチューニング・メカニズムについて、明暗を判別するロドプシンと比較、検討している。バイオ・インフォマティクスにおけるホモロジー・モデリングにより得られた蛋白質の構造を基にして、荷電アミノ酸残基のプロトン化状態、結晶水、水素結合ネットワークなどについての改善を行ない、QM/MM法により青色光受容体の蛋白質の構造を決定している。SAC-CI法を用いて光吸収エネルギーを計算したところ、実験結果とよく一致し、決定された構造の妥当性を確認できた。次に、計算された励起エネルギーにおける蛋白質の影響をアミノ酸毎の寄与に分析して解析を行った。その結果、複数の極性アミノ酸残基がカラーチューニングに寄与しており、最も重要である残基に関しては、その配向が色素近傍の水素結合ネットワークにより制御されていることを世界に先駆けて解明している。

第2部、第4章ではオワンクラゲに含まれる GFP の発色団とそのミュータントである Cyan Fluorescent Protein, Blue Fluorescent Protein, Y66F について、励起・蛍光エネルギーを SAC-CI 法により計算した。これらのミュータントにおいては、遷移エネルギーのシフトの主因が発色団そのものの電子構造に由来することを明らかにした。また、GFP 活性中心における複数のアミノ酸残基を含めた大規模な SAC-CI 計算を行った。これにより、5 eV 以下の遷移エネルギーを有する励起状態を決定し、電荷移動励起状態の存在を確認した。これにより活性中心の光化学研究の出発点を与えた。

第3部、第5章では緑色植物の光センサーであるフィトクロム色素について研究を行っている。フィトクロムは色素の光異性化を含んだ光化学サイクルによりシグナリングを行うと考えられているが、色素の構造変化は未解明であった。種々の構造異性体について分子構造とプロトネーション状態を密度汎関数法計算により決定し、光吸収スペクトルを SAC-CI 法を用いて計算した。その結果、幾つかの主要な中間体である P_r , P_{fr} 型の実験スペクトルを帰属し、光化学サイクルに伴う光吸収ピークの変化を再現することに成功した。これによりフィトクロムの光センシング過程における色素の構造変化を解明した。

論文審査の結果の要旨

本論文は、光センシングや生物発光において代表的な光生物分子であるレチナール蛋白質、フィトクロム、Green Fluorescent Protein の励起状態の電子構造と生物機構について、SAC-CI (Symmetry-Adapted Cluster-Configuration Interaction) 法を用いて行った研究についてまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

1. 視覚やイオンポンプとして重要である各種レチナール蛋白質について研究し、光吸収スペクトルに関する実験結果を高い精度で、かつ系統的に再現することに初めて成功した。さらに詳細な解析を行ない、ロドプシン、バクテリオロドプシン、センサリ-ロドプシン、ヒト網膜の青色光受容体における、カラーチューニングのメカニズムを解明している。これらの研究はレチナール蛋白質の光生物学に大きなインパクトを与え、国際的にも高く評価されている。

2. Green Fluorescent Protein とそのミュータントについて、励起・蛍光エネルギーを SAC-CI 法により計算し、遷移エネルギーの変化の主因が色素の電子構造に由来することを明らかにした。

3. フィトクロム色素の種々の構造異性体の光吸収スペクトルを SAC-CI 法により計算し、幾つかの主要な中間体の実験スペクトルを帰属することに成功した。これにより光化学サイクルにおける光異性化の機構を解明した。

本論文は、上記のとおり光機能性蛋白質における励起状態の制御メカニズムを信頼性の高い量子化学理論を用いて解明したものであり、学術上、実際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成19年1月22日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。