

Rhodopsin の π 電子構造について

山崎 絢子・安藤 敏幸

On the π -Electrons of Rhodopsin

Ayako YAMASAKI and Toshiyuki ANDŌ

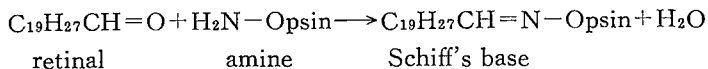
(昭和45年12月1日受理)

1. ま え が き

生体が光の analoge 量の情報をどのようにとらえるのか、すなわち視覚としての問題が種々の人達により研究されている。さて、視細胞に1個の光子が入射し、視細胞の刺激、それによる情報の伝達、その情報の処理のことがらにおいて、まず、視細胞の光子による分子の励起状態においては、どのようになるか、そして、分子レベルでのエネルギー準位、荷電分布等の問題をとり上げてみた。

さて、390 $m\mu$ ~1100 $m\mu$ の可視光の情報が入射しているところは、生体の網膜に密に配列されている二種類の視細胞である。その一つは明暗に感ずるとされている桿体 (rod) で、他は色覚に関与するとされている錐体 (cone) である。この桿体の外節 (rod outer segment) に含まれている rhodopsin の吸収スペクトルが視感度スペクトルと非常によく一致しているので、rhodopsin が光を吸収することによって、光の analoge 量の情報伝達の第一段階がはじまると考えられている。

Rhodopsin は発色団としては、retinol (Vitamin A) の aldehyde である retinal を含んでいる。この retinal は偶数個の炭素原子あるいは π 電子を含むポリエン鎖である。その構造は分子鎖の末端にベンゼン環があり、側鎖に4個の二重結合をもっている。それらが空間回転により立体異性体を生じ、現在存在可能なものは8個の異性体である。Fig. 1 に all-trans 型 retinal, 11-cis 型 retinal の構造を示す。Rhodopsin は分子量約 40000¹⁾ で、retinal の立体異性体 11-cis 型 retinal と opsin (タンパク質と脂質がほとんど等量²⁾) が Schiff 塩基結合をしている³⁾。



一般に Schiff 塩基化合物は pH 指示薬性を示すが、rhodopsin は pH による色変化を示さないし、又 opsin は 11-cis 型 retinal のみと結合することにより、Schiff 塩基結合以外に他の結合も存在すると考えられるが、現在は、それらの結合については、まだ明らかにされていない。

Rhodopsin が光子を吸収すると、発色団の 11-cis 型 retinal が opsin と結合したままで、all-trans 型に異性化して pre-lumirhodopsin を生ずる。

この pre-lumirhodopsin は光とは無関係につづいて lumirhodopsin から metarhodopsin へと変化してゆく。これらの中間産物はタンパク質 opsin の立体構造が次第に変化したもので、常温では不安定で、ついには all-trans 型 retinal と opsin とに加水分解して Schiff 塩基結合が切れて、著しい退色が現われる⁴⁾。中間産物の発色団が再び光をうけとめ光異性化して、11-cis 型にもどると、直ちにもとの rhodopsin が光再生される。中間産物である metarhodopsin は脊椎動物では、常温で不安定であるが、頭足類では常温で安定で終産物へと加水分解しない。このことは rhodopsin から metarhodopsin への変化の過程が視興奮発生にとって重要であることを示している。

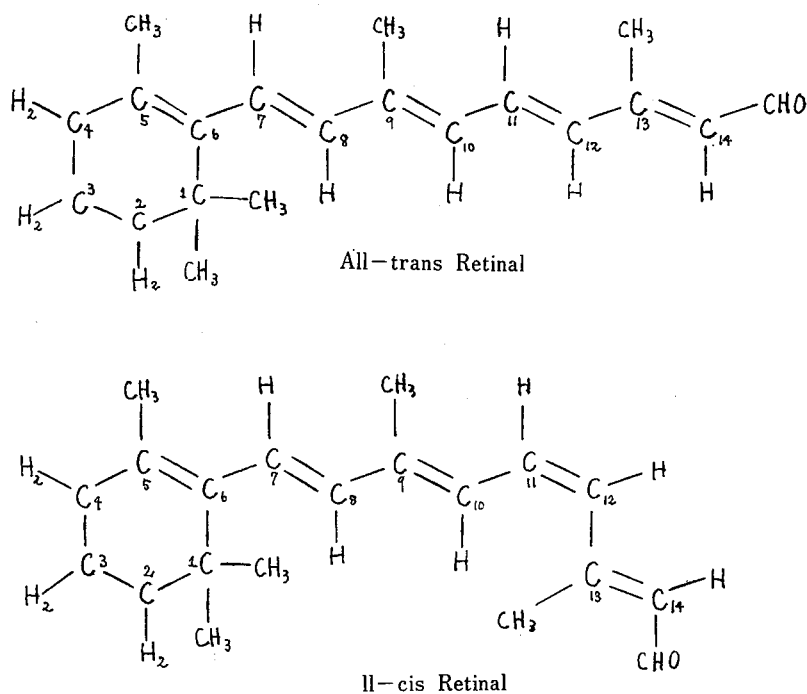


Fig. 1 All-trans 型 Retinal と 11-cis 型 Retinal の構造

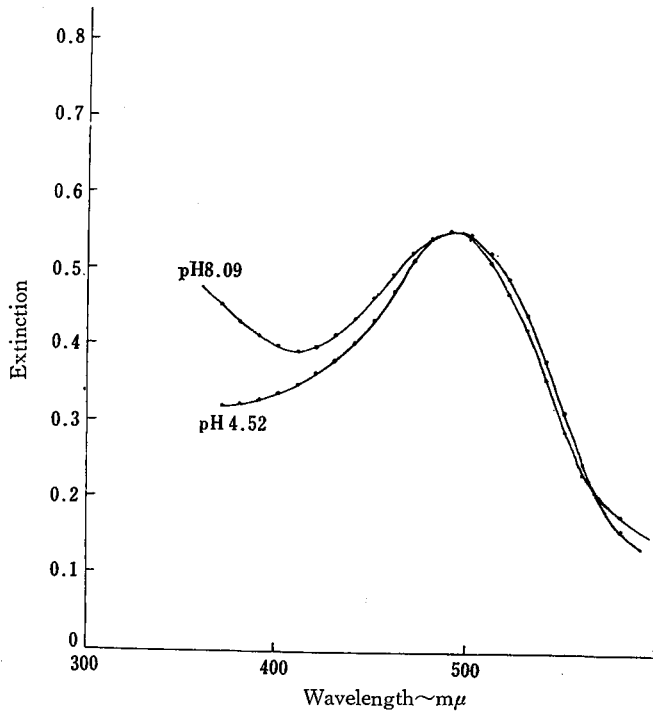
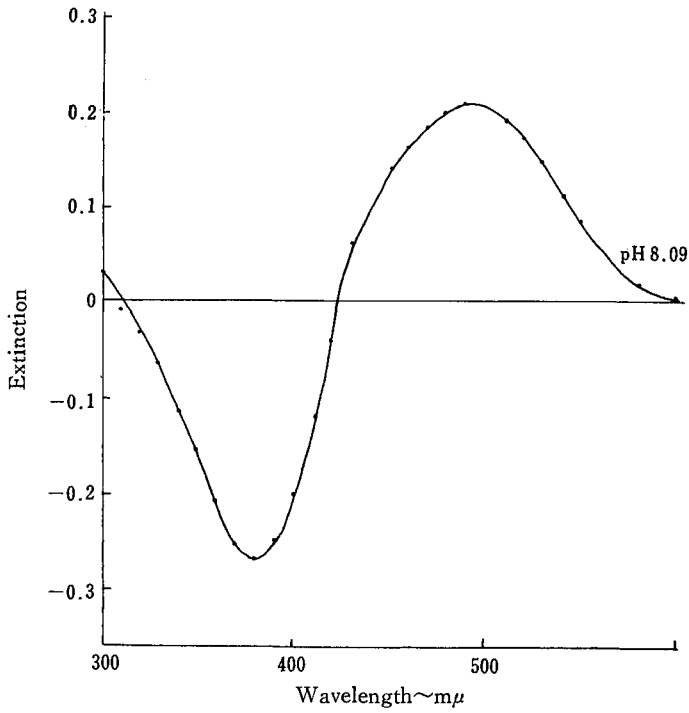
この研究では、土佐湾に生棲している頭足動物マイカ (*Sepia esculenta*) を用いて、rhodopsin を抽出し、光の吸収で rhodopsin から metarhodopsin への移行による吸収スペクトルの変化を調べた。

この吸収スペクトルは retinal によるもので、他のポリエン鎖を持つ色素 (カロチノイド色素) と同じ特徴を示している⁵⁾。吸収スペクトルから、我々は、 π 電子近似の LCAO 法を用いて、分子レベルでの π 電子エネルギー準位、荷電分布を求めた。

2. Rhodopsin の吸収スペクトル

得られた試料マイカ (*Sepia esculenta*) の rhodopsin 水溶液は pH 8.09 と pH 4.52 とし、各々の吸収スペクトルを測定した。この吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。pH の違いによらず吸収極大波長は 490 m μ である。正確な吸収極大波長 λ_{\max} を決定するためには差スペクトルによる。Fig. 3 の差スペクトルからも λ_{\max} は 490 m μ となる。

Rhodopsin が光照射されると、常温で安定な metarhodopsin が生じ、この metarhodopsin は pH 指示薬性を示す二型 alkaline metarhodopsin と acid metarhodopsin が存在することが知られている。本実験でも同様の二型が認められた。pH 8.09 の alkaline rhodopsin 溶液に黄色照射をすると、 λ_{\max} 370 m μ の alkaline metarhodopsin が生じる、この溶液の pH を変化させて acid metarhodopsin とすれば λ_{\max} 500 m μ となる。Acid rhodopsin に黄色光照射した場合は、acid metarhodopsin と光再生された rhodopsin とが平衡した混合物となるので、acid metarhodopsin の単独スペクトルを得ることが出来ない。Metarhodopsin の吸収スペクトルは Fig. 4 で示す。

Fig. 2 マイカ(*Sepia esculenta*) の Rhodopsin の吸収スペクトルFig. 3 マイカ (*Sepia esculenta*) の Rhodopsin の差スペクトル

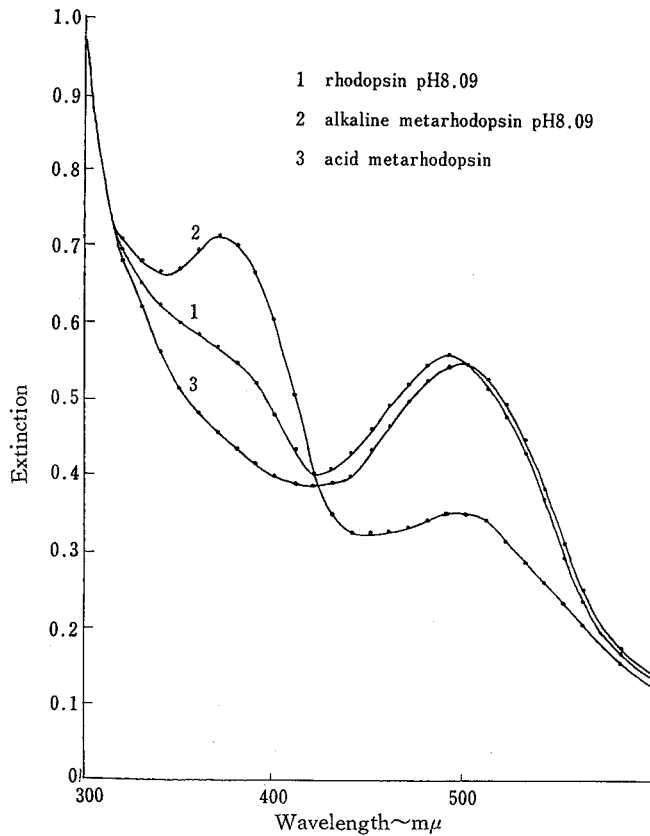


Fig. 4 マイカ (*Sepia esculenta*) の吸収スペクトル

Acid metarhodopsin に黄色光照射を行うと同時に pH を高めてみると, metarhodopsin より rhodopsin が光再生されて, λ_{\max} は短波長側に移る. pH を変えることの効果は, 残っていた acid metarhodopsin から alkaline metarhodopsin を生ずる. Alkaline metarhodopsin と光再生された rhodopsin の λ_{\max} は 370 mμ と 490 mμ である. (Fig. 5.)

この光再生の過程は, 吸収スペクトルの吸光度変化をとらえることからさらに明らかにされる. Alkaline metarhodopsin を紫外照射すると, 490 mμ の吸収が回復して rhodopsin が光再生される. 照射をやめると, 吸光度は暗中で次第に一定値まで低下してゆく. これに黄色光を照射すると, 吸光度は急激に低下して, rhodopsin から metarhodopsin に光異性化する. 吸光度変化の状態は Fig. 6 のとおりである. 光照射による rhodopsin のサイクルの system は Fig. 7 で示す.

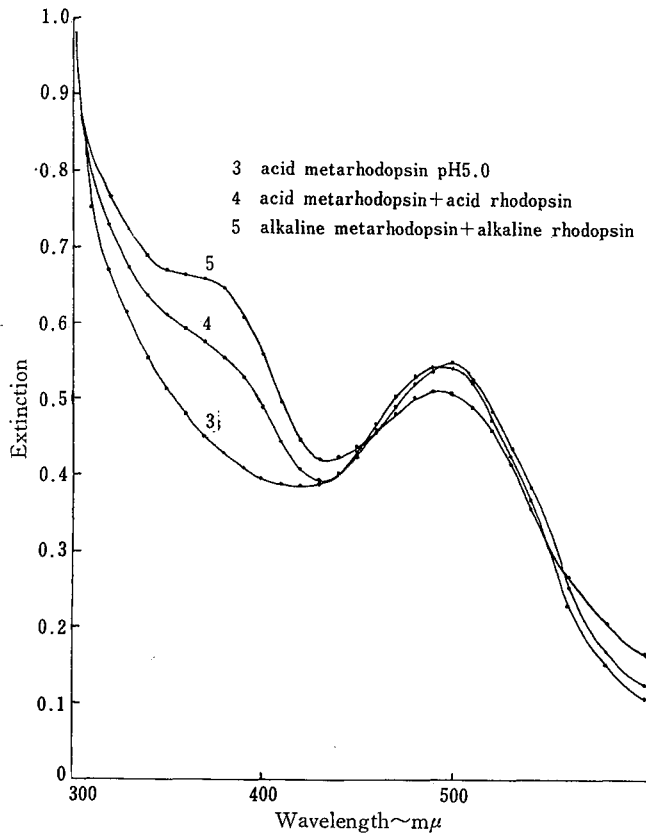


Fig. 5 Acid-metarhodopsin からの光再生による吸収スペクトル

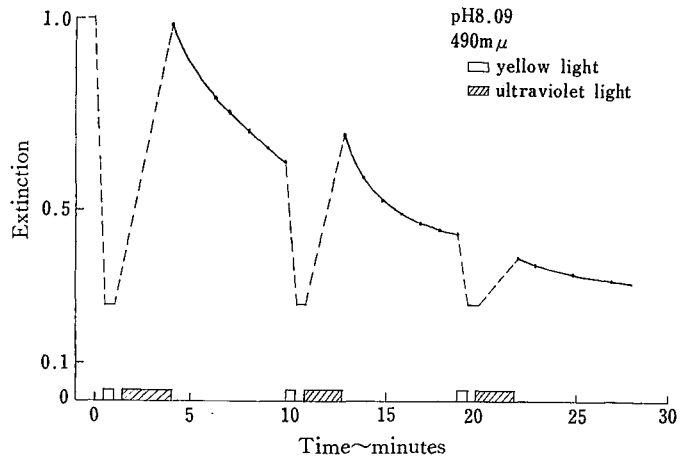


Fig. 6 Rhodopsin の黄色および紫外光照射による吸光度の時間変化

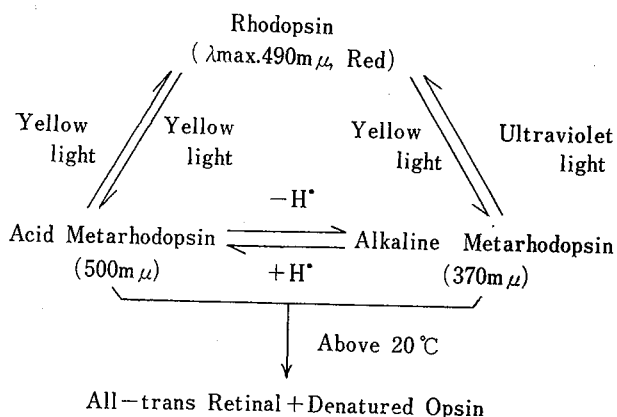


Fig. 7 Rhodopsin 系

3. π 電子構造

我々は rhodopsin の発色団としての retinal のもつ $2N$ 個 ($N=6$) の π 電子を問題にする。 π 電子系の分子軌道関数を $\phi_j(\mathbf{r})$, Hamiltonian $H(\mathbf{r})$, そのエネルギーの固有値を E_j で表わすと、それは次のような形をしている。

$$H(\mathbf{r})\phi_j(\mathbf{r}) = E_j\phi_j(\mathbf{r}). \quad (1)$$

LCAO 近似において、 $\phi_j(\mathbf{r})$ は各原子のまわりに強く局在する原子軌道関数 $\chi_k(\mathbf{r})$ の一次結合で近似する。

$$\phi_j(\mathbf{r}) = \sum_k \chi_k(\mathbf{r}) a_{kj}. \quad (2)$$

ここで χ_k として Slater の $2p_z$ 軌道関数を用いて計算する。(1) 式に (2) 式を代入して χ_i^* を乗じて積分すれば

$$\sum_k H_{ik} a_{kj} = \sum_k (\delta_{ik} + S_{ik}) a_{kj} E_j \quad (3)$$

となり、ここで

$$H_{ik} = \int \chi_i^*(\mathbf{r}) H(\mathbf{r}) \chi_k(\mathbf{r}) d\mathbf{r},$$

$$\delta_{ik} + S_{ik} = \int \chi_i^*(\mathbf{r}) \chi_k(\mathbf{r}) d\mathbf{r}, \quad S_{ii} = 0$$

である。

また、分子軌道関数の規格直交条件は

$$\sum_l \sum_k a_{li}^* (\delta_{lk} + S_{lk}) a_{kj} = \delta_{ij} \quad (4)$$

と表わされる。

(2), (3), (4) 式における a_{kj} を次式で表わすと、

$$a_{kj} = (\delta_{ik} + S_{ik})^{-\frac{1}{2}} c_{kj}.$$

分子軌道関数は

$$\phi_j(\mathbf{r}) = \sum_k \chi_k(\mathbf{r})(\delta_{jk} + S_{jk})^{-\frac{1}{2}} c_{kj}, \quad \psi_j(\mathbf{r}) = \sum_k \varphi_k(\mathbf{r}) c_{kj} \quad (5)$$

となる。ただし

$$\chi_k(\mathbf{r})(\delta_{jk} + S_{jk})^{-\frac{1}{2}} = \varphi_k(\mathbf{r})$$

である。関数 $\varphi_k(\mathbf{r})$ は Löwdin 軌道関数である。この関数は直交する。

$$\int \varphi_k^*(\mathbf{r}) \varphi_l(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = \delta_{kl}.$$

(3), (4) 式は

$$\sum_k H'_{ik} c_{kj} = \sum_k c_{kj} E_j, \quad (6)$$

$$H'_{ik} = (\delta_{ik} + S_{ik})^{-\frac{1}{2}} H_{ik} (\delta_{ik} + S_{ik})^{-\frac{1}{2}}, \quad (7)$$

$$\sum_l \sum_k c_{lk}^* c_{kj} = \delta_{lj} \quad (8)$$

となる。ただし

$$H'_{ik} = \int \varphi_i^*(\mathbf{r}) H(\mathbf{r}) \varphi_k(\mathbf{r}) d\mathbf{r}$$

である。

(6), (7)式に重なり積分を省略し、かつ最隣接原子軌道間以外の非対角要素を省略する Hückel 近似を使用すると

$$\beta_2 c_{2r-2} + \epsilon c_{2r-1} + \beta_1 c_{2r} = 0, \quad (9a)$$

$$\beta_1 c_{2r-1} + \epsilon c_{2r} + \beta_2 c_{2r+1} = 0, \quad (9b)$$

$$c_0 = 0, \quad c_{2N+1} = 0 \quad (9c)$$

が得られる。ただし

$$H'_{rr} = \alpha \quad (r=1, 2, \dots, 2N), \quad (10a)$$

$$H'_{2r-1, 2r} = \beta_1 \quad (r=1, 2, \dots, N), \quad (10b)$$

$$H'_{2r, 2r+1} = \beta_2 \quad (r=1, 2, \dots, N-1), \quad (10c)$$

とおく、なほ

$$\epsilon = \alpha - E_j$$

である。(9)式を解くためには H. SUZUKI 等の方法による⁹⁾。

さて、 $\beta_2/\beta_1 < 1 + \frac{1}{N}$ のときには

$$\beta_2 \sin N\theta + \beta_1 \sin(N+1)\theta = 0 \quad (11)$$

を満足する θ の N 個の解

$$\pi > \theta_N > \theta_{N-1} > \dots > \theta_2 > \theta_1 > 0$$

を用いて、展開係数ならびにエネルギーの固有値は次のようになる。

$$c_{m, 2r-1}^{\mu} = -L_m^{\mu} \sin(N-r+1)\theta_m, \quad (12a)$$

$$c_{m, 2r}^{\mu} = K_m^{\mu} \sin r\theta_m, \quad (12b)$$

$$\epsilon_m^{\mu} = \mu(\beta_1^2 + \beta_2^2 + 2\beta_1\beta_2 \cos \theta_m)^{\frac{1}{2}}, \quad \mu = \pm 1. \quad (13)$$

$\theta_N, \theta_{N-1}, \dots, \theta_1$ の値に対応して, (13)式により π 電子エネルギーは

$$\epsilon_N^+ < \epsilon_{N-1}^+ < \dots < \epsilon_2^+ < \epsilon_1^+ \quad (\mu = +1)$$

であり, ϵ_1^+ , ϵ_N^+ は各々最低, 最高被占準位のエネルギーである. エネルギー ϵ_m^+ を持つ波動関数の展開係数は $c_{m, 2r-1}^+$, $c_{m, 2r}^+$ である.

また $2N$ 個の π 電子は N 個の準位 (ϕ_1^+ , ϕ_2^+ , \dots , ϕ_N^+) を占めるから, r 番目の炭素原子のところの π 電子密度は

$$q_r = 2 \sum_{m=1}^N \left(c_{m, r}^+ \right)^2 \quad (14)$$

で表わされる.

(12)式における L_m^{μ} , K_m^{μ} は分子軌道関数 $\phi_i(\mathbf{r})$ の規格直交性が成立するためには

$$\left(L_m^{\mu} \right)^2 = \left(K_m^{\mu} \right)^2 = \left(N - \cos(N+1)\theta_m \cdot \sin N\theta_m / \sin \theta_m \right)^{-1} \quad (15)$$

となる.

retinal のようなポリエン分子の吸収スペクトルは ϵ^+ 分枝の一つの準位から空の ϵ^- 分枝の一つの準位へ, π 電子が遷移する結果と考えられる. この遷移は, m 準位から n 準位に遷移する場合に $m-n=\text{even}$ という選択則に従っておこる. そしてその最も吸収の大きい遷移は $\epsilon_N^+ \rightarrow \epsilon_N^-$ への遷移に相当している.

その理論的波長は (13) 式のエネルギーの固有値より求まり

$$\lambda_{N, N} = hc / 2(\beta_1^2 + \beta_2^2 + 2\beta_1\beta_2 \cos \theta_N)^{-\frac{1}{2}} \quad (16)$$

となり, β_1 , β_2 の値は N に殆どよらず

$$\beta_1 = -4.282 \text{ eV}, \quad \beta_2 = -3.233 \text{ eV}$$

を用いる.

我々は前節でみたように rhodopsin 等に関する吸収スペクトルより吸収極大波長 λ_{max} を得たが, retinal に関しては H. SUZUKI のデータによる⁷⁾. 各々の λ_{max} は Table 1 に示す通りである. 実験の λ_{max} から (13) 式, (16) 式を用いることにより π 電子最高被占準位のエネルギーが求められる. エネルギーが求められると(12)式より, 展開係数, π 電子の分布状態が得られる. 得られたエネルギー ϵ_m^+ , 展開係数 $c_{m, r}^+$, 電子密度 q_r , そして荷電分布は Table 1. に示す.

4. あとがき

光の analoge 量の情報により生ずる視覚の問題を研究するにあたり, 我々は, まず情報をうける detector としての rhodopsin の光による励起状態がどのようになっているかを問題としてとりあ

Table 1. Rhodopsin ならびに Retinal の吸収極大波長, エネルギー準位, 荷電分布

色素の名称	retinalの種類	λ_{\max}	ϵ_6^+	θ_6	$c_{6,r}^+$ ($r=1, 2, \dots, 2N$)	q_6	荷電分布		
retinal	all-trans 型	373 m μ	2.762 eV	139°50'	0.34950	0.25775	0.14212	1.00022	4.812×10^{-10} esu
	retinal				-0.393925	0.13229	0.34431		
rhodopsin	11-cis 型	490 m μ	1.6002eV	161°19'	0.32984	0.11404	-0.35537	0.99992	4.802×10^{-10} esu
	retinal				-0.21606	0.34344	0.29531		
alkaline- metarhodopsin	all-trans 型	370 m μ	2.8076eV	139°2'	-0.360375	0.25831	0.16557	1.06821	5.129×10^{-10} esu
	retinal				-0.39010	0.10948	0.33137		
acid- metarhodopsin	all-trans 型	500 m μ	1.5376eV	163°21'	0.35858	0.10429	-0.36148	0.99857	4.795×10^{-10} esu
	retinal				-0.19984	0.33406	0.27863		

げた. Rhodopsin は発色団 retinal と opsin が Schiff 塩基結合をしたものであるが, 光の情報に対して, retinal が光異性化して視覚のきっかけとなり, それにつづいて opsin 部分の高次構造変化がひきおこされて, 情報の伝達をすすると考えられる. そこで発色団 retinal の光異性化により, 分子の励起状態でのエネルギー準位ならびに荷電分布の変化をとられた. これらの値は *Sepia esculenta* より抽出した rhodopsin について光照射前後における吸収スペクトルの吸収極大波長から π 電子近似の LCAO 法を用いて得た.

ここで, ベンゼン環ならびに Schiff 塩基結合による opsin などの末端構造の影響, retinal の all-trans 型と 11-cis 型の立体構造の違い, retinal の光異性化にともなひきおこされる opsin の高次構造変化, これらの効果は系全体に均一に及ぼされるものと仮定した. それ故に π 電子エネルギー準位, 分布状態は対称性を示している.

以上のように非常に粗な近似であるが, rhodopsin の分子レベルでの状態は推察することが出来ると思う.

今後さらに, 情報伝達につながる視興奮発生の重要な役割を果す, opsin の高次構造変化について検討してゆきたいと思う.

本研究の遂行に当って全面的に御協力くださった堀内和美氏に厚く御礼申し上げる。

文 献

- 1) R. HUBBARD: J. Gen. Physiol., 37, 381 (1954)
- 2) N. I. KRINSKY: A. M. A. Arch. OPHTHAL. PartII, 60, 688 (1958)
- 3) R. A. MORTON and G. A. PITT: Biochem. J., 59, 128 (1955)
- 4) R. HARA: J. Gen. Physiol., 47, 241 (1963)
- 5) H. SUZUKI and S. MIZUHASHI: J. Phys. Soc. Japan 19, 724 (1964)
- 6) H. SUZUKI et al.: J. Phys. Soc. Japan 18, 1051 (1963)
- 7) H. SUZUKI and S. MIZUHASHI: J. Phys. Soc. Japan 19, 724 (1964)

(高知女子大学 物理学研究室)