

## 学位申請論文公開演会

日時：2016年2月1日(月) 15:00-

場所：物理会議室 (C207)

申請者：陳 兆傑 (J研)

題目：Crystallographic Studies on Archaeal Light-driven Proton Pumps  
(古細菌の光駆動プロトンポンプの結晶構造解析)

### 主論文の要旨

生物は代謝に必要なエネルギーを得るため、幾つかのエネルギー変換システムを発達させてきた。古細菌などの生物種では、レチナール色素を含有する膜タンパク質(ロドプシン様タンパク質)が光駆動プロトンポンプとして働き、太陽光エネルギーを電気化学的エネルギー(細胞膜でのプロトン濃度勾配)に変換している。

光駆動プロトンポンプの代表例であるバクテリオロドプシンが1970年代に発見され、そのプロトン輸送機構を理解するための研究が行われてきた。近年、バクテリオロドプシンと類似のプロトン輸送性ロドプシンが多く、生物種から見いだされ、それらの構造・機能解析が進んでおり、また、医療分野への応用研究も盛んに行われている。

申請者は、古細菌由来のプロトン輸送性ロドプシンであるクラックスロドプシン-3(cR3)を精製し、その光化学反応について調べるとともに、膜融合法による結晶化を行い、空間群P321に属する結晶を作製し、2.1Åの分解能のX線回折データを収集した。その構造解析から、cR3がバクテリオロドプシンと同様に7本の膜貫通ヘリックスから構成されており、また、プロトン放出チャネルに存在する2つのグルタミン酸残基のペア構造が低障壁水素結合により維持されていることを示した。このペア構造は、膜融合法で作製した他のプロトン輸送性ロドプシン(バクテリオロドプシン、アーキロドプシン-2)でも確認されたが、このペア構造は異なる結晶化法を用いて作製された結晶中では必ずしも保存されていない。すなわち、タンパク質-脂質間相互作用を維持することのできる結晶化法(=膜融合法)が膜タンパク質の天然状態の構造を決めるのに有効であることが示された。申請者は、さらに詳細な構造比較を行い、cR3は次にあげる特徴を有することを明らかにした。1)レチナール結合ポケットがバクテリオロドプシンで観測されているものより硬くなっており、このことがレチナール結合部位の光誘起構造変化に制約をもたらし、プロトン輸送サイクルにおける初期の反応中間体の形成・減衰速度に影響を与えている。2)4番目と5番目の膜貫通ヘリックスをつなぐループ領域が長くなっており、この部分が三量体構造内の隣のサブユニットと相互作用し、三量体構造の安定化に寄与している。2番目の特徴と関連して、申請者は、cR3を高密度で含む膜小胞に過剰量の界面活性剤を添加するとcR3の三量体構造が単量体状態に解体され、これと同時に光照射下でのcR3の構造安定性が劇的に減少することを見出した。この観測結果から、cR3の三量体構造の形成は、強い太陽光に晒されるという環境下でタンパク質の構造を安定に保つのに必要とされることが示唆された。