

学位申請論文公開講演会

日時 : 1月25日(火) 14:00~
申請者: 竹田一旗
場所 : 物理会議室(C-422)
題目 : 光駆動プロトンポンプ・バクテリオロドプシンのM中間体の
X線結晶構造解析

(主論文の要旨)

高度好塩菌のバクテリオロドプシンは、光のエネルギーを利用してプロトンの濃度勾配を生み出すプロトンポンプとして機能する、7本の膜貫通ヘリックス(A~G)からなる膜蛋白質である。分子内に結合しているレチナール色素が光を吸収し、一連の中間体(K、L、M、N、O)をたどる反応サイクルによってプロトン1個を細胞膜の内側から外側へ輸送し、もとの基底状態に戻る。輸送機構を詳細に解明するためには、基底状態のみならず各中間体の構造解析が不可欠である。

このような生体膜に埋もれて存在する膜蛋白質は構造解析に必要な三次元結晶化が困難であるが、バクテリオロドプシンの二次元膜に少量の界面活性剤と塩を加えて作成した均質な球状ベシクルを濃縮しベシクル同士の融合を促進させる方法を開発することで、2.5

分解能以上のX線回折反射を与える三次元結晶の作成に成功した。X線結晶構造解析により、バクテリオロドプシンは、細胞膜における存在様式と同じ三量体をこの結晶中에서도形成していることが分かった。この三量体が蜂の巣状の平面構造を形成し、さらに立体的に累積することで結晶格子が形成されていた。また、バクテリオロドプシン1分子あたり5分子の脂質分子を観察することができた。これらの脂質は三量体の形成や蛋白質の安定化に重要な役割を果たしていると推測された。さらに、三次元結晶中では格子形成に関連した蛋白質の間の相互作用によりM中間体の寿命は生理的条件下にくらべて約100倍長くなっており、光照射後に急速凍結し低温(100 K)に保つことで、高い効率(~70%)でM中間体を捕捉することが可能であった。

放射光施設SPring-8において収集したX線回折データを解析しM中間体における構造を決定することで、L中間体までは光を受容するレチナール色素やその周辺に局在していた構造変化が、M中間体ではヘリックスGのスライド運動によって蛋白質内を伝播していき、中心から離れた領域の構造変化を同時に引き起こす機構が解明できた。

本研究において明らかとなったM中間体におけるバクテリオロドプシン自身の構造変化やそれに伴うプロトンチャンネル中の水分子の位置の変化は、プロトン輸送と水分子輸送が共役しているとする名古屋大学の研究グループが提案している輸送モデルの発展に重要な寄与をなす。