

## バクテリオロドプシンの酸性状態およびアルカリ状態の X 線結晶構造解析

奥村英夫

生体内には色々な種類の能動輸送系が存在し、そのエネルギー源も様々である。光エネルギーを利用して細胞膜内外にプロトン濃度勾配を作り出す膜蛋白質の一つにバクテリオロドプシン (bR) がある。bR は高度好塩菌 *Halobacterium salinarum* の細胞膜上に見いだされた。bR は 7 回膜貫通ヘリックス構造を持ち、蛋白質の中央にはレチナル色素が結合し、通常は紫色を呈する。レチナルが光を吸収すると光反応サイクルが開始され、5 つの反応中間状態を経て光照射前の状態に戻る。この間 1 個のプロトンが細胞質側から細胞外側に能動輸送される。

bR は光エネルギーを利用し細胞膜を隔てて 1 万倍以上ものプロトン濃度差を作り出すことができる。その光エネルギー変換効率は形成されるプロトンの電気化学ポテンシャルに比例する。従ってこのプロトン活性を理解し、より高効率のプロトンポンプを設計するならば、ポンプ活性を持った構造が光受容によって生み出される pH 勾配、膜電位の存在下で如何に維持されるかについての理解が必要不可欠である。しかしながら、pH 勾配存在下で bR の立体構造を高分解能で求めるのは困難である。そこで本研究では、広い範囲の pH 領域での bR の構造を調べ、立体構造に及ぼすプロトン濃度勾配の影響を明らかにした。

### 紹介論文

Crystal Structures of Acid Blue and Alkaline Purple Forms of Bacteriorhodopsin

Okumura, H., Murakami, M. and Kouyama, T\*. (Nagoya Univ.)

J. Mol. Biol., 351, 481-495 (2005)

### 要旨

bR の三次元結晶を用いて、中性状態から酸性状態への転移、および高アルカリ pH 領域で見られるアルカリ転移に伴う構造変化について調べた。まず、膜融合法により bR の三次元結晶を作成し、ソーキング法により結晶構造を壊すことなく結晶の pH 制御を行った。その結果、pH2 から pH10 の広範囲にわたる分光学的データ及び高分解能の X 線回折データを収集することができた。構造解析の結果、(1)pH4~pH9 の広い pH 領域において中性型の構造が安定に保たれること、(2)酸性領域では pH3.5 付近の狭い領域で吸収スペクトルの急激に変化し、これに伴いいくつかの膜貫通ヘリックスが傾き、活性中心から細胞外側表面にかけてのプロトン放出チャンネルの構造が大きく変化すること、(3) pH10 辺りでプロトン放出チャンネルの出口にある解離性アミノ酸残基の側鎖の向きが変わること、が明らかとなった。結果、M 中間体の構造と酸性状態の構造間に多くの共通点が見出された。一方、pH>10 での構造ではプロトン放出チャンネルの一部の構造が変化しており、この結果は光反応サイクルのキネティクスが pH10 辺りで激変する現象に対して構造学的観点からの説明を与えた。また、広い pH 範囲にわたる中性 pH 型構造の保持には、プロトン放出チャンネル内にある 2 つの Glu 残基間の低障壁水素結合の存在が重要であると示唆された。