

Title	X-ray Diffraction Studies on the Structural Changes during Bacteriorhodopsin Photocycle
Author(s)	岡, 俊彦
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3169160">https://doi.org/10.11501/3169160</a>
DOI	10.11501/3169160
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	岡 俊 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 15198 号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科宇宙地球科学専攻
学位論文名	X-ray Diffraction Studies on the Structural Changes during Bacteriorhodopsin Photocycle. (X線回折法によるバクテリオロドプシンの光反応過程での構造変化の研究)
論文審査委員	(主査) 教授 徳永 史生  (副査) 助教授 久富 修 教授 山中 高光 教授 木下 修一 奈良先端科学技術大学院大学 教授 片岡 幹雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

膜蛋白質のバクテリオロドプシン (BR) は高度好塩菌の細胞膜上に存在し、光を吸収して水素イオンを細胞質側から細胞外側に輸送する。BRはこの光反応サイクル中のM中間体およびN中間体で構造変化を起こすことが知られていた。この構造変化はBRの内部にあり水素イオン輸送の中心的な役割を果たすレチナルへ通じる水素イオン輸送経路を細胞外側から細胞質側へ切り替えるために起こると考えられている。私はこのBRの光反応過程でおきるM中間体以降での構造変化を調べることを目的に、時分割X線回折測定システムを構築し、BRの光反応過程での構造変化を測定した。実験はSpring 8の理研ビームライン I (BL45XU)・小角散乱ステーションで行った。試料にはBRの2次元結晶である紫膜 (pH 9、10°C) を用いた。試料の紫膜からのX線回折像を測定中に、試料にキセノンフラッシュランプを照射し光反応を開始させ、X線回折像の変化を測定した。時間分解能は244msとした。この測定データを特異値分解法により解析した結果、3つの有意な成分が検出された。吸光度測定およびFTIR測定の結果からこの時間領域ではM中間体とN中間体の2つの中間状態と光反応サイクルを終えた状態しか存在しないことが分かったので、X線回折実験から検出された3つの有意な成分はこれら3つの状態に相当すると考えられた。またX線回折のデータに対し差フーリエ解析を行ったところ、M中間体に相当する速く崩壊する成分ではGヘリックス近傍の電子密度がもっとも大きく変化しているのに対し、N中間体に相当する遅い成分ではFヘリックス近傍の電子密度がもっとも大きく変化していた。この結果によりM中間体とN中間体の構造が大きく異なり、M中間体からN中間体への遷移過程でFヘリックスの電子密度が変化することが示された。

またシステイン残基を導入したBRに重原子試薬を修飾し、その重原子位置を精密に測定する実験も行った。この結果低分解能データからでも重原子位置を精密に測定できることが分かった。さらにこの手法を用い光反応前とMN中間体での重原子位置の変化を調べた。この結果GヘリックスのC222に修飾した重原子位置が2 Å程度動くことが分かった。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

岡俊彦君提出の論文は、放射光Spring 8の1つのビームラインにおいて光照射後時分割X線回折実験が行えるよ

うに、閃光照射装置、試料台、X線光学系、データ収集装置、データ解析システムなどを立ち上げた。それらを用いて、最も単純な光合成系の光受容体バクテリオロドプシンの光吸収に伴う動的構造変化を明らかにした。これまで光吸収スペクトルから明らかにされていた中間体との関係を、閃光照射後の光吸収変化や、フーリエ変換赤外吸収スペクトルを測定することによって明らかにした。この成果はバクテリオロドプシンの研究や光生物学のみならず、生体物質の動的構造変化や機能発現機構の研究にまでも大きく貢献するものである。よって博士（理学）の学位論文として十分価値有るものと認める。