



Title	バクテリオロドプシンの光反応M中間体の性質と構造に関する研究
Author(s)	宇留賀, 朋哉
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37297
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	宇 留 賀 朋 哉
学 位 の 種 類	工 学 博 士
学 位 記 番 号	第 9 7 8 2 号
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 26 日
学位授与の要件	基礎工学研究科 物理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	バクテリオロドプシンの光反応M中間体の性質と構造に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 葛西 道生 (副査) 教 授 佐藤 俊輔 教 授 柳田 敏雄 助教授 若林 克三

論 文 内 容 の 要 旨

バクテリオロドプシン (以下 bR と略記する) は, 高度好塩菌 Halobacterium halobium の細胞膜の一部を形成する紫膜内に存在する膜蛋白質である。bR は, 光を吸収すると, 数種類の間媒体を経て元の状態に戻る光反応サイクルを行い, その際, 細胞の内側から外側へプロトンを輸送する。本論文は, bR のプロトン輸送機構に対する知見を得る事を目的として, 光反応M中間体の性質と構造を分光学的方法及びX線回折学的方法を用いて調べた結果をまとめたものである。

第 I 章では, 架橋処理や脂質の抽出処理を施した紫膜を対象として調べた。この処理により, 数ミリ秒から数秒の範囲で 3 ~ 5 種類の寿命の長いM中間体が生ずる事が分かった。寿命が長くなった事により, 光照射下で 40 ~ 80% の bR がM中間体に遷移した状態の試料が得られた。これによって, X線回折像からM中間体の構造を調べる事が可能となった。0.25%トリトンX-100を含む溶液中に懸濁したトリトンX-100処理架橋紫膜の場合, M中間体への遷移に伴い, 紫膜の結晶の単位胞の拡大や回折強度の変化が見られた。しかし, 同時に結晶構造に乱れも生じた。結晶構造の乱れを考慮した解析を行った結果, 光照射により bR に何らかの構造変化が起こっている事が明らかとなった。一方, 他の処理を施した紫膜においては, 回折像に光照射によるこのような変化は見られなかった。

第 II 章では, 揮発性麻酔薬を紫膜, 菌体及び再構成ベシクル中の bR に作用させて, M中間体の受ける影響を調べた。麻酔薬の作用で, 567nm に吸収極大を持つ bR_{567} と, 480nm に吸収極大を持つ bR_{480} が生じ, そのでき方は, bR の会合状態に依存する事が分かった。 bR_{567} は, 412nm に吸収極大を持つ寿命の短いM中間体を経る光反応を行い, そのプロトンポンプ効率は増大している事が示された。一方, bR_{480} は, 380nm 付近と 380nm 以下に吸収極大を持つ寿命の長いM中間体を 2 種類持ち, そのプロトンポンプ

効率は非常に小さいか、あるいは活性を持たない事が示された。この結果は、bR の構造変化がプロトンポンプ機構に強く反映される事を明らかにするものであり、bR における機能を解明する上で構造研究が重要である事を示すものである。

論文審査の結果の要旨

バクテリオロドプシンは高度好塩菌の細胞膜にあって、光エネルギーを利用してプロトンを細胞内から細胞外へ汲み出すポンプとして機能している。その構造と機能の関係を調べることは、光エネルギーの化学エネルギーへの変換のメカニズムを知る上で重要である。本論文は、このバクテリオロドプシンの光中間体の一つであるM中間体の構造および性質を調べることにより、この蛋白質の示すプロトンポンプ機能の分子的機構を明らかにしようとしたものである。

第1章ではM中間体の構造をX線回折法により調べた結果を報告している。M中間体の寿命は天然の状態では5ミリ秒と短いため、そのままではX線回折法を適用できない。そこで、化学的処理を行ってM中間体の寿命を延ばす試みを行い、定常光照射下で80%近くがM中間体として存在する試料の作製に成功した。X線回折像は光照射に伴って格子定数の増加と強度分布の変化を示した。しかし、同時に結晶性に乱れが認められたので、乱れを考慮した解析を行った結果、M中間体形成にともなって蛋白質自身に何らかの構造変化が起こっていることが明らかになった。

第2章ではエーテル系の麻酔薬がバクテリオロドプシンの光吸収スペクトル、M中間体の寿命およびプロトン輸送の効率に及ぼす影響について調べた結果を報告している。それによると、麻酔薬の作用でバクテリオロドプシンは吸収極大波長が567nmと480nmにある2つの異なる状態に移り、前者では、M中間体の寿命は短くなるとともにプロトンポンプの輸送効率が増大し、後者では寿命が長くなると同時にプロトンポンプ機能が失われることが分かった。この結果は、プロトンポンプ機能がバクテリオロドプシンの取る構造と密接に関連していることを示すものである。

以上のように、本論文はバクテリオロドプシンのプロトンポンプ機構の解明に新しい知見を与えるものであり、学位論文として価値あるものと認める。