

Title	Structure and Function of Light-Driven Proton Pump, Bacteriorhodopsin
Author(s)	上久保, 裕生
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40863">https://hdl.handle.net/11094/40863</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	かみくほ ひろなり 上久保 裕 生
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 13623 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科物理学専攻
学位論文名	Structure and Function of Light-Driven Proton Pump, Bacteriorhodopsin. (光駆動プロトンポンプ-バクテリオロドプシンの構造と機能)
論文審査委員	(主査) 教授 徳永 史生  (副査) 教授 山中 高光    教授 宮下 精二    教授 木下 修一 教授 倉光 成紀    助教授 片岡 幹雄

### 論文内容の要旨

本研究では、一分子光駆動プロトンポンプであるバクテリオロドプシン (bR) を研究試料とし、機能発現過程で生じる局所的状態変化、特に解離性アミノ酸残基のプロトン化状態の変化と、高次構造変化の間の因果関係を明らかにすることを通じて、一方向プロトン輸送の分子機構を明らかにした。

#### 光反応過程で生じる高次構造変化の誘起機構

bR では、M中間体の形成過程で反応中心であるシッフ塩基 (SB) の細胞外側のチャンネルへの脱プロトン化が生じ、M中間体の崩壊過程で異なった膜面である細胞質側のチャンネルからSBは再プロトン化する。この反応中心のアクティブサイドの変化の制御機構 (再プロトン化スイッチ機構) を明らかにすることは、bR の一方向プロトン輸送機構を明らかにする上で本質的な問題である。ここでは特にM中間体生成時に生じるSBの脱プロトン化と高次構造変化の因果関係に注目し、それを明らかにすべく研究を行った。本研究では、その為に、照射なしにSBのプロトン化状態をpH依存的に制御できる変異体を用い、SBの脱プロトン化に伴う高次構造変化をX線回析法によって測定した。その結果、ここで生じる構造変化はこれまでに示されているM中間体形成時に見られる構造変化に相同性が高く、SBの脱プロトン化によって中間体構造が誘起されることが明らかとなった。この結果から、SBのプロトン化状態に依存的な高次構造転移によって、シッフ塩基のアクティブサイドが制御され、その結果として再プロトン化スイッチが実現しているものと示唆された。

#### N中間体で生じる高次構造変化

M中間体でSBのアクティブサイドの転移が生じた後、MおよびN中間体の崩壊過程でSBは細胞質側から再プロトン化する。しかしながら、この再プロトン化過程は細胞質側のチャンネル内に存在する Asp96 を介して二段階で生じており、幾分複雑である。そこで、本研究ではこのSBの再プロトン化過程の分子機構を明らかにするために、これまでに明らかにされていなかったN中間体で生じる高次構造変化を明らかにすべく研究を行った。N中間体の安定化状態を検索したところ、F171をCに置換した変異体でN中間体が安定化されることを見出した。この変異体を用いX線回析測定を行った結果、N中間体では細胞質側のチャンネルが開くようにFヘリックスが傾くといった高次構造変化が生じていることが示唆された。また、ここで観測された構造変化はこれまでに我々が明らかにしてきたM中間

体で生じる変化と相同性は高いものの区別可能な違いが存在することが明らかとなった。

#### M-typeとN-type構造間の水和依存的転移

先に述べたように、bRではその光反応過程で二つの区別可能な構造を獲得していることが明らかとなった。そこで、これらの構造の違いがSBの再プロトン化過程に対しどのような役割を担っているのかをより明らかにするために、M中間体ですでにN-type構造を安定に蓄積するD96N変異体bRに対し、試料の水和量を変化させた際の、中間体構造への影響をX線回折測定、並びに、赤外吸収分光測定によって調べた。その結果、高度に水和した試料ではN-type構造が蓄積されているのに対し、試料を脱水和していくに従って、N-type構造の形成が阻害され、M-type構造の蓄積するのが観測された。以上の結果から、N-type構造はM-type構造に比べ試料の水和状態に、より感受性が高く、少なくとも、N-type構造の形成には試料まわりの水分子の存在が必要であることが示唆された。以上の結果はN-type構造はM-type構造に比べより細胞質側のチャンネルが開き、チャンネル内が水和した状態であることを示唆している。おそらく、M-type構造では完全にチャンネルが開いておらずSBと Asp96 の間の相互作用が構築されるのみに止まり、N-type構造獲得によってチャンネル内がより水和し、その結果 Asp96 のpKa が制御され、Asp96 の脱プロトン化並びにSBの再プロトン化が生じているものと考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

生体光受容蛋白質は光を受容すると数種の中間体を経て変化する。そのうちの特定の中間体が情報変換やエネルギー変換において重要な役割をする。上久保君提出の論文は、最も単純な光合成系である高度好塩菌光合成の光受容蛋白質バクテリオロドプシンについて、アミノ酸置換体を駆使し、諸条件下での中間体の構造を解析し、光受容後の構造変化を明らかにした。さらにそれらを元にプロトン輸送機構のモデルを提出した。

これらの知見やモデルは生体光受容の分子内機構を理解する上で重要なものであり、人工的光合成開発に寄与するものである。よって上久保君提出の論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。