

Title	A Motion Analysis of Photoactive Yellow Protein(PYP) from PYPM to dark state in the photocycl : by using real-time NMR spectroscopy
Author(s)	濱田, 格雄
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43581
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	はま だ のり お 濱 田 格 雄
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 7 9 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科宇宙地球科学専攻
学 位 論 文 名	A Motion Analysis of Photoactive Yellow Protein (PYP) from PYP _M to dark state in the photocycle~by using real-time NMR spectroscopy~ (光受容蛋白質 PYP の光反応過程における活性中間体 PYP _M からの戻り過程の動的構造解析~NMR 法を用いて~)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 徳 永 史 生 (副査) 教 授 山 中 高 光 教 授 川 村 光 教 授 河 原 崎 修 三 教 授 菊 池 誠 教 授 倉 光 成 紀 助 教 授 山 本 仁

論 文 内 容 の 要 旨

光受容蛋白質である Photoactive Yellow Protein (以下 PYP) は、*p*-クマル酸を発色団として持つ水溶性蛋白質である。PYP は、紅色光合成細菌中に存在し、この細菌の負の走光性、すなわち光からの忌避行動に関与していると考えられている。発色団の共役 π 電子が可視領域の光を吸収することにより、発色団が異性化し、蛋白質の構造変化を誘引し、他の物質や蛋白質と相互作用することにより情報を伝えるという機能発現メカニズムを有していると考えられている。この発色団異性化、及び蛋白質の構造変化は、数種類の可視分光的に分類可能な光反応中間体として検出できる。この中でも M 中間体と呼ばれる中間体が機能発現における必須構造体と考えられている。この M 中間体の構造並びに構造変化を研究することは、蛋白質の機能発現過程を考える上で非常に重要である。今回、M 中間体から元の暗状態の PYP に戻る過程を分光学的手法、特に NMR を用いることで、残基レベルでの解析を試みた。

M 中間体構造は、可視・紫外吸収、CD (円偏光二色性)、FTIR (フーリエ変換赤外吸収) スペクトルの結果から、発色団は異性化プロトン化状態にあり、蛋白質部分は二次構造にかなり大きな変化があることが明らかとなった。また、X 線小角溶液散乱法 (SAXS) により、蛋白質の慣性半径を測定した結果、M 中間体時には、15% 程度容量が増えることが明らかとなり、M 中間体は、暗状態 PYP より少し膨らんだ構造を持っていることが明らかとなった。また、速度論的測定結果から発色団由来の可視吸収スペクトルの戻りの時定数と SAXS 測定による蛋白質全体の戻りの時定数が一致することも分かった。このように M 中間体と暗状態 PYP では、二次構造及び三次構造共に異なっており、蛋白質全体にわたる構造変化が起きていることが明らかとなった。これは、PYP が光を受け他の物質或いは蛋白質と相互作用するために必須の構造変化と考えられる。さらに NMR により残基レベルでの戻り過程の解析を行った結果、まず発色団周りの疎水残基から戻り反応が起き、疎水環境が出来上がった後に、発色団の再異性化反応が起きていることが明らかとなった。これは、発色団を水分子や他の反応性の高い物質から保護し、安全に再異性化反応を行わせるために必須の動きと考えられる。このことにより、PYP は、効率良く、蛋白質が破壊されことなく、光反応サイクルを回すことができると考えられる。蛋白質全体では、N 末端領域ドメインの戻りが早く、この部位は構造的に安定であることが予想される。また発色団と水素結合を形成しているヘリックス領域の戻りが遅いことから発色団の異性化反応完了後に水素結合が形成され、ヘリックスが最終的に形成されるものと予想される。このように蛋白質の立体構造変化は、疎水相互作用と水素結合の協動的動きによって実現されていることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

濱田格雄君提出の論文は、蛋白質の機能と構造との関係を理解するために、光合成細菌の産生する Photoactive Yellow Protein の M100L 変異体を取り上げ、光吸収、赤外吸収、円二色性、X線小角散乱により野性型との相違を検討した後、M100L の M 中間体からの戻りの反応を、時分割 NMR 法により解析したものである。その結果、その反応での PYP の残基毎の動きを明らかにすることが出来た。それによるとその反応では疎水性残基が先ず殻を作り、その中で発色団の異性化が起こり、そしてその周りが元の構造に戻っていくことが分かった。このような蛋白質についての NMR 測定は世界的に初めてであり、また蛋白質で各残基の動きが明らかにされたのも始めてである。

この成果は PYP の研究のみならず蛋白質の研究において画期的な成果であり、蛋白質研究に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。