

バクテリオロドプシンの酸性転移における構造変化の理論的研究

(名大院・理* CREST・JST**) ○渡辺宙志*, 倭剛久*,**

[序論]

生物の光エネルギーから生体エネルギーへの変換で広く知られているものに光合成と光駆動ポンプがある。高度好塩菌 *Halobacterium salinarum* は特定条件下で紫膜を発現し、その光駆動ポンプ機能によって生み出すプロトンの濃度勾配エネルギーを生命活動に利用する。ポンプの役割を担う膜タンパク質バクテリオロドプシン(bR)は、光を吸収すると一連の構造変化を伴った光反応サイクルを起こす。光反応サイクルでは光吸収レチナール色素が all-trans から 13-cis, 15-trans 型へ光異性化した後、特定残基がプロトンを着脱しながら最終的に1個のプロトンを細胞内から外へ輸送する。この過程において固有の吸収波長を示す中間状態 (K, L, M, N, O) が報告されている。光反応サイクルの初期過程に関しては、構造や動力学において多くの特性が明らかになってきた。しかし後半の中間体 N や O に関しては、精製の難しさから未知の部分が多い。しかし近年、レチナールおよびその近傍残基の電荷分布の観点から、酸性状態や一部のミュータントが O 中間体との構造的な類似性をもつと示唆されてきた。

[研究目的]

本研究の目的は、第一に O 中間体モデリングの前段階として、O 中間体と構造の類似性をもつ酸性状態が構造既知であることを利用し、本研究で使用するモデリング手法の有効性を確認すること。第二に基底状態から酸性状態の構造をモデリングすることで基底状態から酸性状態に遷移する際の内部の電荷分布の変化による bR の構造応答、および酸性と O 中間体の構造の関連性を調べることである。

[モデリング手法]

(中性モデル) O 中間体は pH や膜脂質の種類、量によって影響を受けることが報告されており、これが O 中間体研究を困難なものにしている。本研究では中性条件下での紫膜を bR の三量体構造および天然脂質を用いて厳密に再現した。以下の酸性状態のモデリング構造には初期構造として、この中性紫膜モデルを使用している。

(酸性モデル) bR は過去の研究から、その中間状態毎に特定アミノ残基のプロトン化状態が変化することが知られている。よって、平衡状態にある各中間状態は、確率的なプロトン移動が起こると、その電荷分布に対応した次の平衡状態に遷移すると考えられる。この観点に基づきシミュレーション中に人為的にプロトン移動を引き起こす、すなわちアミノ酸残基のプロトン化状態を操作することで、別の状態をモデリングする。この手法は酸性状態に限らず、O 中間体を含む他の中間体にも適用な方法である。また系を平衡状態を保ち漸近的に遷移させるためにアミノ酸のプロトン化には自由エネルギー摂動法を用いた。

[結果]

モデルした酸性状態のヘリックスレベルでの構造評価には、主成分解析を応用した。その結果、実験的な酸性状態の特徴をシミュレーションでも再現することに成功した。

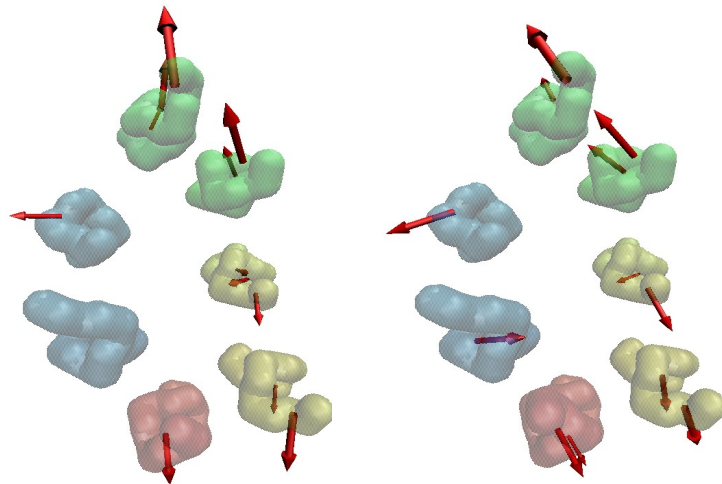


図1 :再現された中性から酸性への構造変化。
細胞質外側から眺めた図。
(左図) 第一成分
(右図) 第二成分

また、アミノ酸レベルでのミクロな構造の変化においては、O 中間体から基底状態に遷移する際生じるプロトン移動のドナーとアクセプターのサイトを空間的に隔てている Arg82 の周囲の空隙が増加することを確認した。これに伴い内部に侵入した水分子が2つのサイトをつなぐ水素結合ネットワークを形成しやすくなる。一般的にプロトン移動は水素結合ネットワークを利用し行われると言われることから、この水の分布がO→bR 遷移においてのプロトン移動に重要な役割を果たすと考えられる。

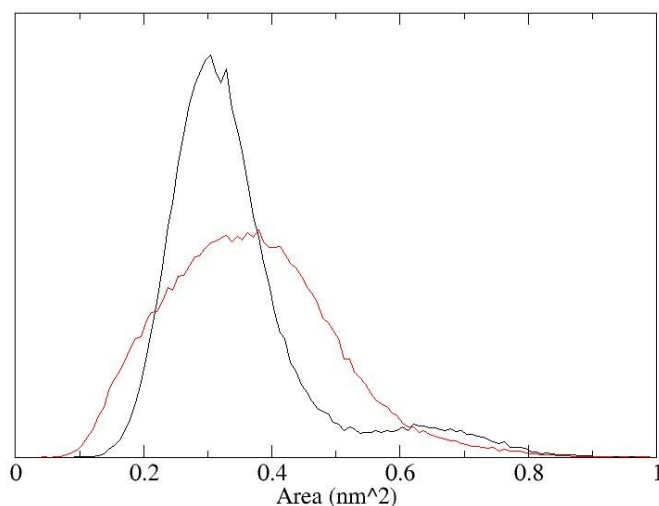


図2 :Arg82 に沿った Solvent accessible Surface area
(黒線)中性
(赤線)酸性

図 3 : 酸性状態において Arg82 の周囲に入り込んだ水によって形成される水素結合ネットワーク

