

## センサリーロドプシン I の光反応ダイナミクスの研究

(名工大院・工<sup>1</sup>、名大院・理<sup>2</sup>)川本健一<sup>1</sup>、井上圭一<sup>1</sup>、谷ヶ崎仁<sup>2</sup>、須藤雄気<sup>2</sup>、本間道夫<sup>2</sup>、神取秀樹<sup>1</sup>

## Study on light reaction dynamics of sensory rhodopsin I

(Nagoya Institute of Technology<sup>1</sup>, Nagoya University<sup>2</sup>)Kenichi Kawamoto<sup>1</sup>, Keiichi Inoue<sup>1</sup>, Jin Yagasaki<sup>2</sup>, Yuki Sudo<sup>2</sup>, Michio Homma<sup>2</sup>  
and Hideki Kandori<sup>1</sup>

【序】微生物型ロドプシンの一種である Sensory rhodopsin I (SRI) は緑～赤色光に集まる正の走光性と、青色光から逃避する負の走光性の光受容体として機能する。光を受けた SRI は構造変化を起こし、情報変換タンパク質 (HtrI) の構造変化を誘起することで、鞭毛の回転方向を制御するためのシグナル伝達が行われる (図 1)。我々は走光性シグナル伝達メカニズムの解明に向けて、古細菌 *Haloarcula vallismortis* 由来の SRI (*HvSRI*) を用いた研究を行った。*HvSRI* は研究が進んでいる *Halobacterium salinarum* 由来の SRI (*HsSRI*) とよく似たタンパク質である (アミノ酸の identity 69 %) が、可溶化状態や低塩濃度条件下で安定であるため、様々な測定が可能である。また、発色団レチナルのプロトン化シッフ塩基のカウンターイオンである Asp76 の pKa は 6.6 であり、*HsSRI* と同様に生理条件下である中性付近では酸性型と塩基性型の 2 形態をとる。今回の研究では両形態の光反応中の分子構造変化を観測するため過渡回折格子法 (TG 法) による測定を行った。

## 【実験】

TG 法は光励起した試料の屈折率の変化を測定することで体積変化や分子拡散といった分子全体の動きを過渡的に捉えることができる手法であり、2 本の励起光 (532 nm) をサンプル溶液中で交差するように入射し、生じた干渉縞によって分子を光励起させ、周期的な屈折率変化を起こさせる。そして、ブラッグ条件を満たしたプローブ光 (808 nm) を入射することで生じる回折光の信号強度を光電子増倍管によって検出することで屈折率の変化を測定することができる (図 2)。

試料として、*HvSRI* を pH 5 のバッファーに溶かし

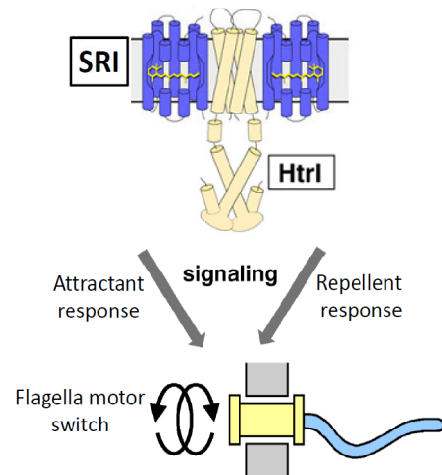


図 1. SRI によるシグナル伝達

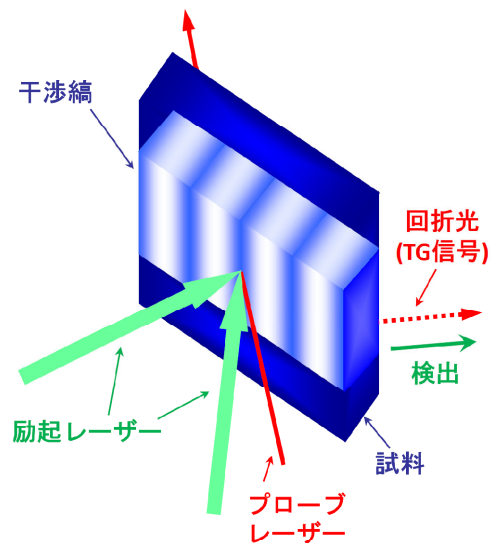


図 2. 過渡回折格子法 (TG 法)

たものを酸性型、pH 8.5 のバッファーに溶かしたものを塩基性型として用いた。

【結果】

酸性型および塩基性型 *HvSRI* から得られた TG 信号を図 3 に示す。酸性型と塩基性型では TG 信号に大きく違いがみられることから両者の構造変化は大きく異なっていると考えられる。また、酸性型、塩基性型ともに数ミリ秒の時間領域において過渡吸収変化が見られなかったのに対して TG 信号には屈折率の変化を伴う成分が見られた (図 4)。この変化は分子の体積変化に寄与するものと考えられ、*HvSRI* の部分モル体積が変化していることを示している。また、体積変化は酸性型と塩基性型で逆の変化を示すことがわかり、始状態におけるカウンターイオンのプロトン化、脱プロトン化状態による違いが光反応時の構造変化に違いを及ぼしていると考えられる。

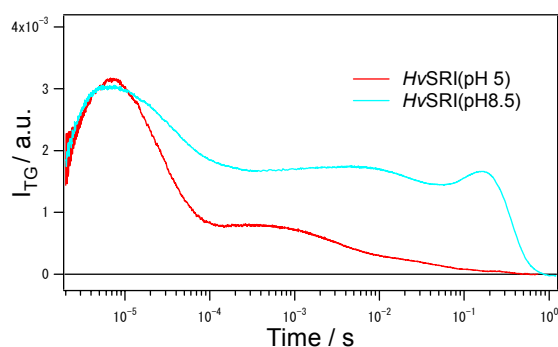


図 3.酸性型 (赤線) 及び塩基性型 (青線) *HvSRI*

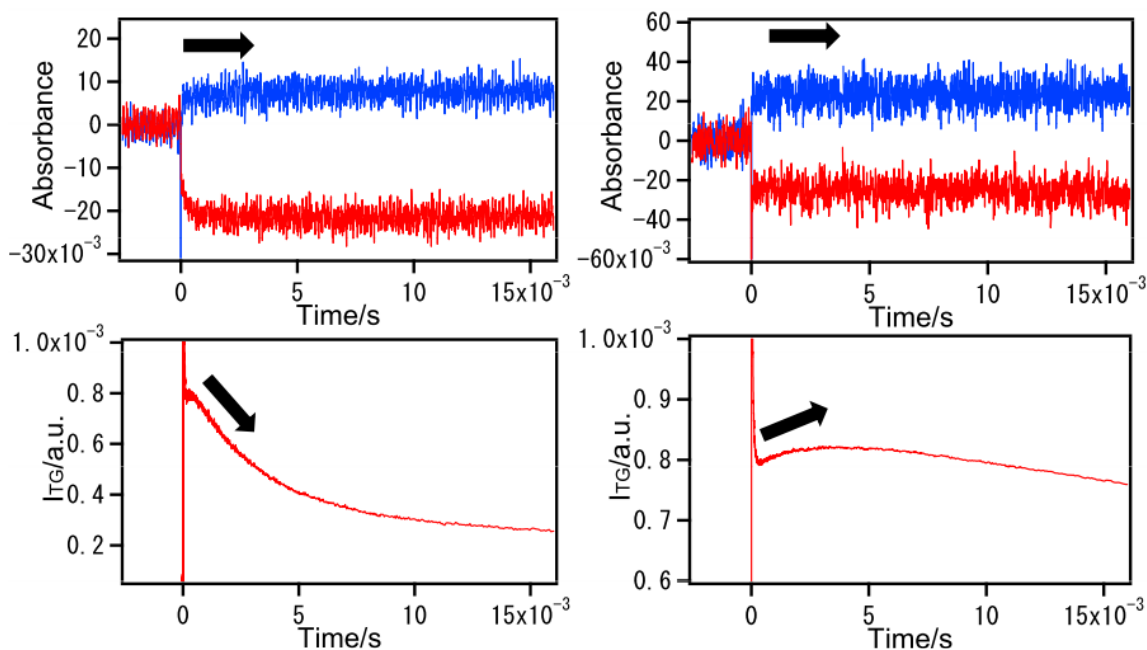


図 4.酸性型 (左)、塩基性型 (右) *HvSRI* の過渡吸収変化 (上) と TG 信号 (下)

次に、2本の励起光から成す角度を変えることで干渉縞の格子波数を変え、拡散信号の変化から分子の拡散定数を求める実験を行なった。その結果、基底状態において酸性型の拡散定数は  $D = 5.94 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  で分子量 104 kDa と単量体に相当するのに対し、塩基性型の拡散定数は  $D = 1.90 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  で 3155 kDa とおよそ 30 量体に相当することがわかった。さらに、酸性型では基底状態及び励起状態の拡散定数に大きな違いが見られなかったが、塩基性型の M 中間体では拡散定数が  $D = 3.83 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  となり、387 kDa に相当すること、すなわち、基底状態と M 中間体で分子構造が異なることがわかった。この拡散定数の過渡的な変化について、当日の発表で詳細な議論を行う。