

4A01

ロドプシンがプロトンをポンプするためには 強い水素結合をもった内部結合水が必要である

(名工大院工) ○神取秀樹、古谷祐詞、柴田幹大

ロドプシンは動物や細菌において、光情報変換や光エネルギー変換を担う膜蛋白質である。後者の代表であるバクテリオロドプシン (BR) の場合、イオンを能動輸送することで細胞内外の濃度勾配を形成する分子ポンプ蛋白質のトップランナーとして活発な研究が行われてきた¹。BRが光を吸収すると、レチナールの異性化反応によって蛋白質の構造変化が誘起され、5回のプロトン移動の結果として玉突き的にプロトンの輸送が起こる。これまでの研究から、ポンプの方向性を決定する「スイッチ」はレチナールシッフ塩基部位に局在し、この部位には3個の内部結合水を含むユニークな水素結合ネットワークが存在することがわかっている。

しかしながら、最近のゲノム解析により真正細菌や真核生物に発見された古細菌型ロドプシンの存在は、プロトンポンプ機構の謎を再認識させることとなった。例えば、真核生物のアカパンカビに発見された古細菌型のロドプシンは、BRのプロトン輸送経路のアミノ酸を同様にもつにも関わらず、プロトンポンプ活性をもたない。変異蛋白質を用いた研究によれば、1アミノ酸の置換でプロトンポンプは塩素イオンポンプになるが²、塩素イオンポンプはプロトンポンプにはならない³ (プロトンポンプの方が上等?)。光でプロトンをポンプするためには、いったい何が必要なのだろうか？

我々は低温赤外分光を用いて BRなどが機能発現する際の水分子の水素結合変化を研究している⁴。これまで BRにおいて、水の伸縮振動としては「異常に」低い振動数をもった水を観測し、これがレチナールシッフ塩基と Asp85 をブリッジする水に由来することを示した⁵。同様の解析を BRの変異体や種々のロドプシンに対して行う中で⁶、興味深い事実が明らかになってきた。すなわち、図2のようにプロトンポンプ活性と強い水素結合を形成した水分子

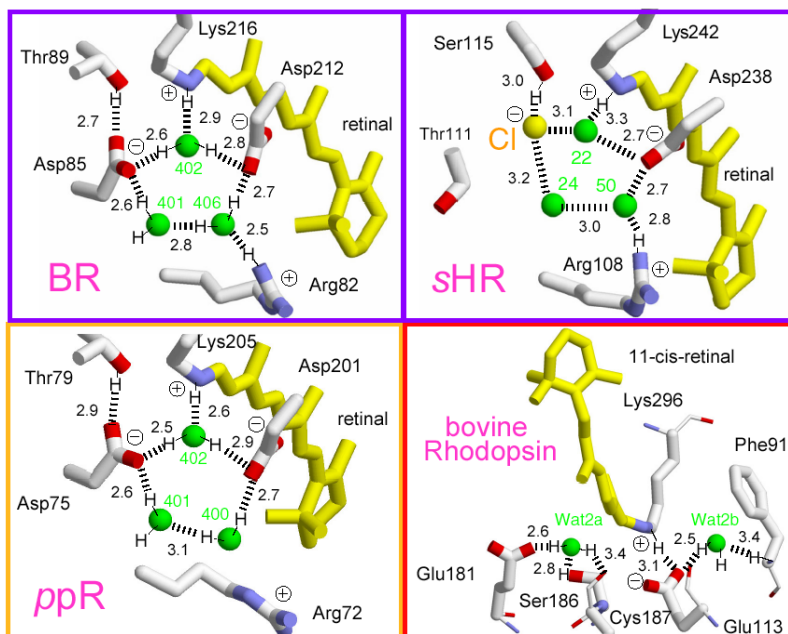


図1：光駆動プロトンポンプのバクテリオロドプシン (BR)、クロライドポンプのハロロドプシン (HR)、古細菌の光センサーであるファラオニスフォロドプシン (ppR)、動物の光センサーであるウシロドプシン (bovine Rh) のシッフ塩基部分の構造。古細菌ロドプシンでは、3個の水分子が2個の負電荷とペンタゴンクラスターを構成している。

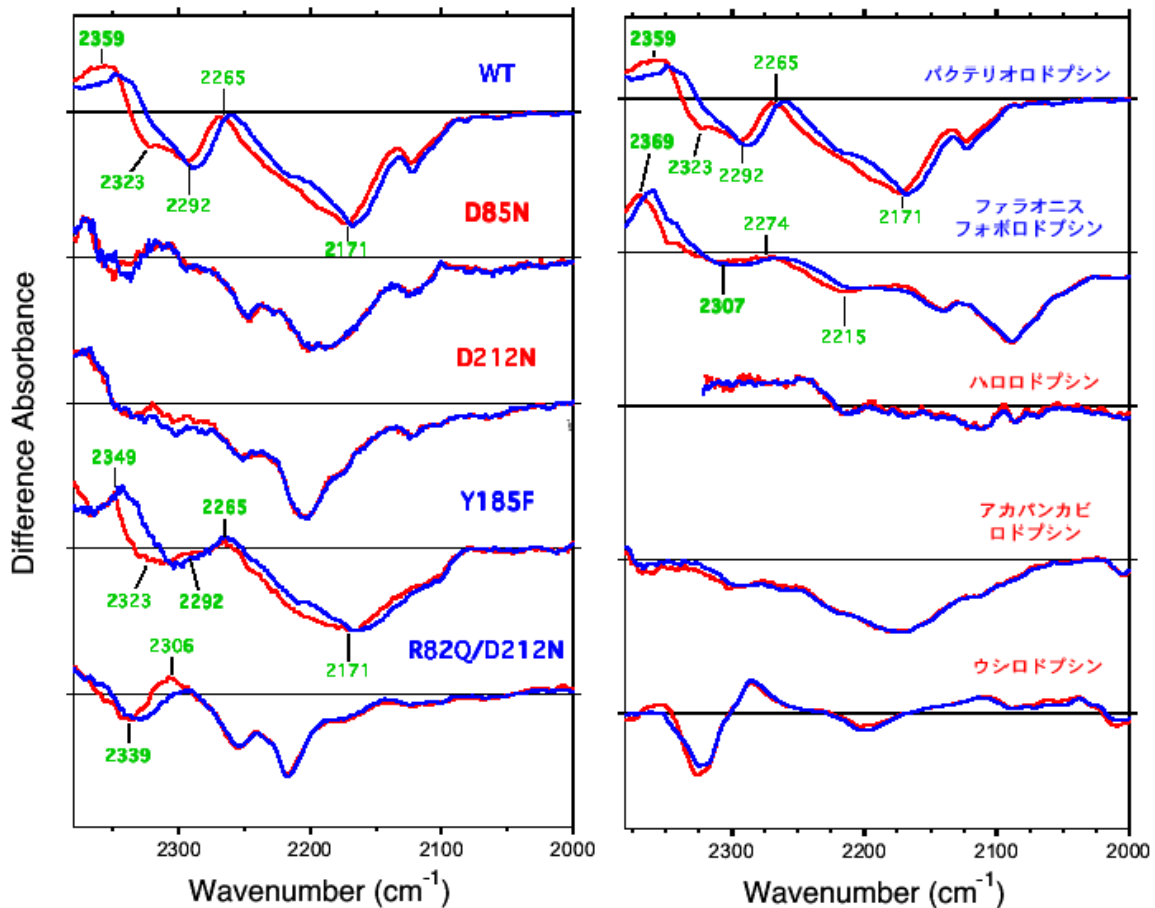


図 2 : 重水中で強い水素結合を形成した水分子の O-D 伸縮振動領域。 ^{18}O (青のスペクトル) でシフトする振動が水分子に由来する (緑色のタグ)。 $>2400\text{ cm}^{-1}$ にはすべての試料で水の信号が観測されるが、図の領域に水の信号をもつものは、プロトンポンプ活性をもった BR やその変異体と ppR だけ (青字) である。

の存在との間に正の相関が見出されたのである⁷。現在、我々は「プロトンをポンプするためには、古細菌ロドプシンという蛋白質鑄型内に強い水素結合を形成した水を配置すればよい」という作業仮説の元、研究を進めている。この仮説に従えば、ロドプシンのポンプ活性は 1 個の水の水素結合によって決まることになる。光エネルギーが入力されるシッフ塩基部位の重要性を考えればもっともな気もするが、ナノメータサイズで機能する分子機械にほんとうに当てはまるのであろうか？ 討論会では、最新のデータと併せて両者の相関がもつ意味について議論したい。

- [1] 神取秀樹 (2001) 日本物理学会誌 56, 75-82.
- [2] J. Sasaki, L. S. Brown, Y-S. Chon, H. Kandori, A. Maeda, R. Needleman and J. K. Lanyi (1995) *Science* 269, 73-75.
- [3] G. Varo, L. S. Brown, R. Needleman and J. K. Lanyi (1996) *Biochemistry* 35, 6604-6611.
- [4] H. Kandori (2000) *Biochim. Biophys. Acta* 1460, 177-191; H. Kandori (2004) *Biochim. Biophys. Acta* 1658, 72-79; 柴田幹大, 神取秀樹 (2004) 生物物理 44, 113-117; 神取秀樹 (2005) 現代化学, 9月号印刷中.
- [5] H. Kandori and Y. Shichida (2000) *J. Am. Chem. Soc.* 122, 11745-11746; M. Shibata, T. Tanimoto and H. Kandori (2003) *J. Am. Chem. Soc.* 125, 13312-13313; M. Shibata and H. Kandori (2005) *Biochemistry* 44, 7406-7413.
- [6] H. Kandori, Y. Furutani, K. Shimono, Y. Shichida and N. Kamo (2001) *Biochemistry* 40, 15693-15698; Y. Furutani, Y. Shichida and H. Kandori (2003) *Biochemistry* 42, 9619-9625; M. Shibata, N. Muneda, K. Ihara, T. Sasaki, M. Demura and H. Kandori (2004) *Chem. Phys. Lett.* 392, 330-333; Y. Furutani, A. G. Bezerra Jr., S. Waschuk, M. Sumii, L. S. Brown and H. Kandori (2004) *Biochemistry* 43, 9636-9646; M. Shibata, N. Muneda, T. Sasaki, K. Shimono, N. Kamo, M. Demura and H. Kandori (2005) *Biochemistry* in press; Y. Furutani, A. Kawanabe, K.-H. Jung and H. Kandori (2005) *Biochemistry* in press.
- [7] Y. Furutani, M. Shibata and H. Kandori (2005) *Photochem. Photobiol. Sci.* in press.