



レチナール蛋白質の光反応中間体の結晶構造解析

村上 緑

名古屋大学理学研究科

キーワード : ロドプシン, 双安定性光反応

1. 背景と研究目的

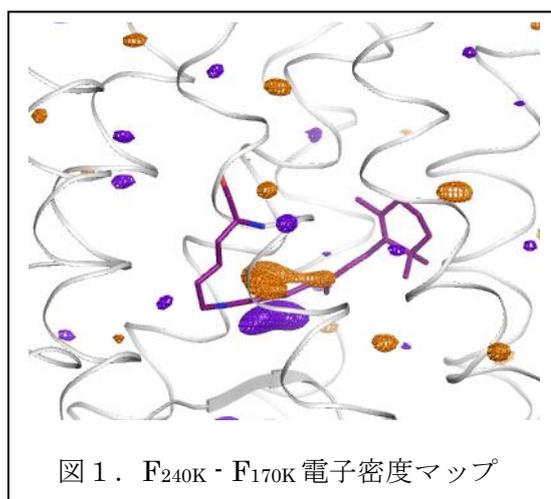
視物質ロドプシンは目の網膜視細胞に存在する光受容膜蛋白質で、7回膜貫通ヘリックス構造を特徴とするG蛋白質共役型受容体である。発色団レチナールはヘリックス7のリジン残基に結合しており、暗順応状態(Rh)の11シス型レチナールが光を吸収すると全トランス型へと異性化しRh→Batho→Lumi→LM/Meta1の中間体を経て光産物であるMeta中間体へ遷移し、G蛋白質へと光情報を受け渡す。脊椎動物のロドプシンはMeta2からレチナールが外れ脱色してしまうが、無脊椎動物ロドプシンはMeta中間体が安定であり(双安定性)、さらに光を吸収して異性化し最終的には暗順応状態へと戻る。われわれは無脊椎動物ロドプシンの双安定性光反応機構を明らかにすることを目標として、イカロドプシンについて結晶構造解析を行い、これまでにRh、Batho、Lumiおよび9シス型イソロドプシン(Iso)の構造を求めてきた。本実験課題ではLM中間体の構造の構造を定めることを目指した。

2. 実験内容

イカロドプシン暗順応状態の結晶に対し、100 Kにて光を照射するとRh、Batho、Isoの3異性体の光平衡状態になる。青色光(447 nm)を照射すると最もBathoの形成率が大きくなり(~45%)、この結晶を暗条件下で170 Kまで昇温するとLumiへ、240 Kまで昇温するとLMへBathoがそのまま遷移し、他の異性体の存在比は変わらなかった。その後、再び100 Kまで冷却し、回折実験を行った。それぞれの結晶から収集したデータセットから計算した構造因子(F_{240K} 、 F_{170K})によって差電子密度マップを計算し、それを説明するようにLMのモデルを構築した。なお、各反応中間体の存在比は実験室での顕微分光測定によってそれぞれのステップで精度よく見積もっている。

3. 結果および考察

あいちSRのBL2S1とSPring-8のBL38B1で複数回ビームシフトをいただき、収集したデータセットを組み合わせて明瞭な差電子密度マップを得ることができた(図1)。差電子密度マップは活性部位のレチナール近傍のみに局在しており、すなわち、LumiからLMが形成すると主にレチナールに構造変化が生じることが示された。レチナールの β イオノン環はほとんど動かないが、ポリエン鎖のヘリックス3と細胞外側 β シートで挟まれた辺りからシッフ塩基近傍にかけて細胞質側へと移動していた。ウシロドプシンと比較して動きやすい部位が異なり、イカロドプシンではシッフ塩基近傍が光活性化時に動くことが予想された。

図1. $F_{240K} - F_{170K}$ 電子密度マップ