



無脊椎動物ロドプシンメタ中間体の結晶構造解析

村上緑

名古屋大学大学院理学研究科

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。ロドプシンでは無脊椎動物、脊椎動物に共通して膜内で発色団レチナールがヘリックス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光反応サイクルが開始される。その後Rh→Batho→Lumi→LM/Meta1中間体(無脊椎動物/脊椎動物)を経て光産物であるMeta中間体へと遷移し、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光産物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。われわれはこれまでイカロドプシン暗順応状態の結晶を用い、低温下で光照射する条件を整え、240Kまで昇温することでLM中間体までを捕捉し構造解析を行ってきた。ところがそれ以上昇温すると、メタ中間体の形成にもともなって結晶性が著しく低下する。これは分子全体に大きな構造変化が起こることを示唆する

本研究で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、イカロドプシンのメタ中間体について結晶構造解析を行った。

2. 実験内容

スルメイカの網膜を単離し、メタ中間体を100%含む膜試料を調製した。この試料は暗条件下で一月以上安定に存在することを確認した(図1)。その試料を用いて結晶化を行い、硫酸を沈殿剤として100%酸性型が存在するpHで一辺約50 μ mの六方晶結晶を得た(図2)。この結晶を用いて回折実験を行った。

3. 結果および考察

この結晶を用いて顕微分光測定を行い、480 nmに吸収極大波長をもつことを確認した。100%酸性型が存在する結晶化条件で得た結晶であることから、この結晶は酸性型メタ中間体であると考えられた。この結晶を液体窒素温度に凍結し、あいちSR BL2S1およびSPring-8 BL38B1において回折実験を行い、回折データを収集した。解析の結果、空間群 $P6_2$ 、格子定数 $a = b = 123.1 \text{ \AA}$ 、 $c = 158.6 \text{ \AA}$ 、 $\alpha = \beta = 90^\circ$ 、 $\gamma = 120^\circ$ であった。現在分解能3.6 \AA で構造解析を進めている。

意外にも結晶化条件および結晶のパラメータは暗順応状態の場合とほぼ等しい。素直に解釈すれば、メタ中間体は暗順応状態とほぼ等しい構造をもつと考えられ、実際に得られた電子密度からも、メタ中間体は閉じたヘリックス構造をもつことが考えられた。この構造が無脊椎動物ロドプシンの双安定性光反応機構の基盤となると考え、活性部位の構造とヘリックス構造の関連を解析中である。

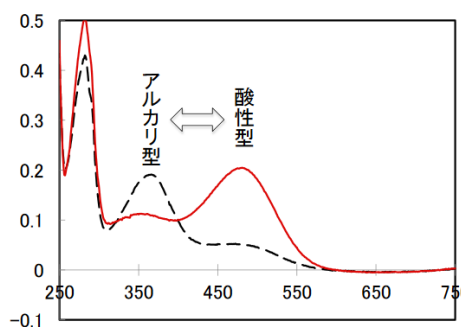


図1. メタ中間体のpH依存性

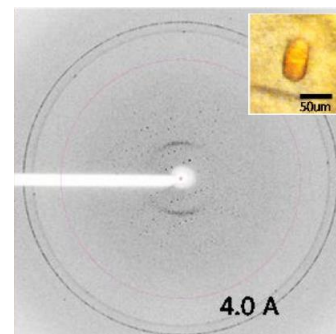


図2. メタ中間体結晶と回折像