



## 微生物型ロドプシン EAT1b の結晶構造解析

友池 史明<sup>1</sup>, 堀 桃子<sup>1</sup>, 板橋 剛<sup>1</sup>, 永江 峰幸<sup>2</sup>, 岡田 哲二<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 学習院大学 理学部生命科学科, <sup>2</sup> 名古屋大学 シンクロトロン光研究センター

キーワード：タンパク質結晶, 微生物型ロドプシン

### 1. 背景と研究目的

微生物型ロドプシン EAT1b は *Exiguobacterium sp. strain AT1b* 由来の光受容タンパク質である。アミノ酸配列解析の結果から、光受容の中心であるレチナールに対するプロトドナーであるリジン残基周辺の環境、および膜と相互作用する領域が、既知の微生物型ロドプシンと異なることが示唆されている。このことから、脂質に埋め込まれた状態にある EAT1b の立体構造を決定することで、微生物型ロドプシンの構造と光受容能の相関について知見が得られると期待される。本研究では、EAT1b の構造決定を目指し、Lipid Cubic Phase (LCP) 法で調製した EAT1b の結晶に、あいちシンクロトロンにて X 線を照射した。

### 2. 実験内容

GST タグをつけた EAT1b を大腸菌で大量発現し、アフィニティークロマトグラフィーによって精製した。これを脂質と混合し、沈殿剤とともに疎水処理を施したカバーガラスに挟むことで、結晶化を行った。

得られた結晶については、カバーガラスから取り出した後、グリセロールに浸し、X 線を照射した。

### 3. 結果および考察

LCP 法により、EAT1b の結晶をえることに成功した (Fig. 1)。

結晶は橙色を呈しており、カバーガラスを切り外すことで結晶を回収した。得られた結晶に、あいちシンクロトロン光センターの BL2S1 にて、X 線を照射したところ、最初のグリセロール条件では結晶中の水が凍ったことを示すアイスリングがみられた。

そこで、アイスリングが消失するように、グリセロール濃度を最適化した。グリセロール濃度を高くすることにより、アイスリングが観察されない条件を見出すことに成功した。

一方、タンパク質結晶由来のスポットは観察されなかった。露光時間を長くした場合においても、回折点は観察されなかった。これは、結晶の大きさは十分あったことから、結晶の質がまだ不十分であったことが原因と考えられる。

今後の計画として、タンパク質結晶の質を向上させるため、タンパク質の純度、脂質や沈殿剤の種類などの結晶化条件を再検討する予定である。

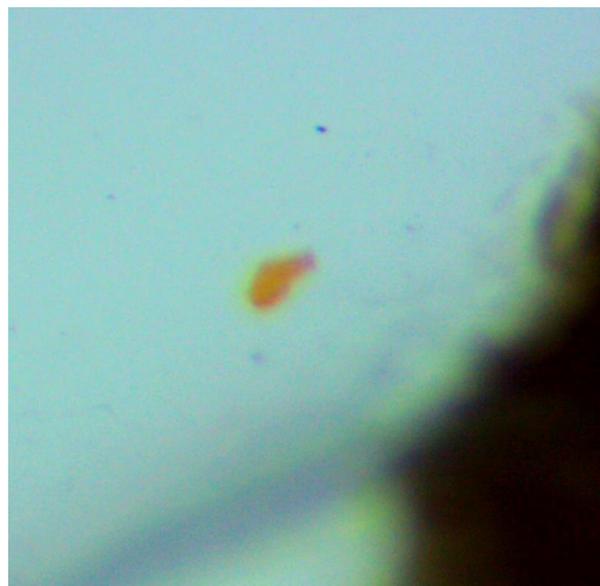


Fig. 1 EAT1b の結晶写真