

微生物型ロドプシン TR の X 線結晶構造解析 Structural study of bacterial thermophilic rhodopsin.

水谷健二^{1,*}, 橋本直記¹, 塚本卓², 須藤雄気², 村田武士¹

¹ 千葉大学大学院理学研究科, 〒263-8522 千葉県千葉市稲毛区弥生町 1-33

² 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科(薬学系), 〒700-8558 岡山県岡山市北区鹿田町 2-5-1

Kenji Mizutani^{1,*}, Naoki Hashimoto¹, Takashi Tsukamoto², Yuki Sudo² and Takeshi Murata¹

¹Graduate School of Science, Chiba University, 1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba-shi, Chiba, 263-8522, Japan

²Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science, Okayama University, 2-5-1 Shikata-cho, Kita-ku, Okayama-shi, Okayama, 700-8558, Japan

1 はじめに

ロドプシン類は生物の光受容に用いられる膜タンパク質の一種であり, 分子内に色素分子(レチナール)を内包している. 微生物型ロドプシンの中で最も高い安定性を持つのがサーモフィリックロドプシン(TR)である. TR は緑色光を吸収してプロトンポンプとして機能, 75°Cで4時間熱しても約80%が活性を保ち続ける. TR の安定化メカニズムを解明することにより, 他のロドプシンの安定化への貢献につながると期待される.

本研究では上記の背景をふまえ, TR の立体構造の解明をこころみた.

2 実験

TR の結晶化には大腸菌発現系により発現・精製した蛋白質サンプルを用いた. TR 結晶はモノオレインを用いたLCP法により得られた. X線回折実験は波長1.1Åで行い, 得られた回折データはXDSで指数付け・積分・スケール処理した後, xanthorhodopsin (XR)の立体構造をモデル分子としてPhaserで分子置換法による位相決定を行った. 分子モデリングにはCootを使用し, 構造精密化はRefmac5, auto BUSTER, Phenix refineで行った.

3 結果および考察

LCP法により得られたTRの結晶は空間群P1に属しており, 格子定数は $a=63.186\text{\AA}$, $b=67.693\text{\AA}$, $c=73.045\text{\AA}$, $\alpha=116.48^\circ$, $\beta=114.14^\circ$, $\gamma=90.82^\circ$ であった. この結晶について分解能2.8Åの回折データセットを取得できた. 構造精密化を行った結果 $R_{\text{work}}=0.2284$, $R_{\text{free}}=0.2777$ の統計値となった.

得られた構造(図1)はXRと比較して, 内部の静電的相互作用は少なく, 逆に疎水的相互作用は多かった(表1).

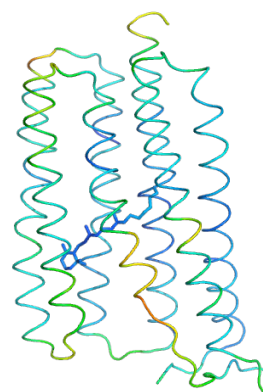


図1. TR の構造

	TR	XR
Polar residues	66	87
Hydrophobic residues	172	166
Residues related to aromatic-aromatic interactions	26	21
Hydrogen bonds	503	590
Hydrophobic interactions	297	267
Aromatic-aromatic interactions	25	20

表1. TR と XR の分子内相互作用の比較

4 まとめ

TR の結晶化を行い, 分子置換法により構造決定した[1]. XR との構造比較により, 分子内の疎水性相互作用が TR の熱安定性と関わりがあることを示した.

参考文献

[1] T. Tsukamoto, *et al.*, *J. Biol. Chem.* **291**, 12223 (2016).

謝辞

X 線回折実験を行うにあたり、Photon Factory の
ビームラインスタッフにきめ細やかな対応やアドバイスを賜りました。心より感謝申し上げます。

* k.mizutani@chiba-u.jp