

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 Phenix refine, Refmac5 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 $a=62.937\text{\AA}$, $b=67.149\text{\AA}$, $c=74.616\text{\AA}$, $\alpha=116.774^\circ$, $\beta=115.633^\circ$, $\gamma=90.932^\circ$ であった. この結晶について分解能 3.3\AA 程度の回折データセットを取得した. 現在構造精密化を進めている ($R_{\text{work}}=0.281$, $R_{\text{free}}=0.377$).



図 1 : TR の結晶

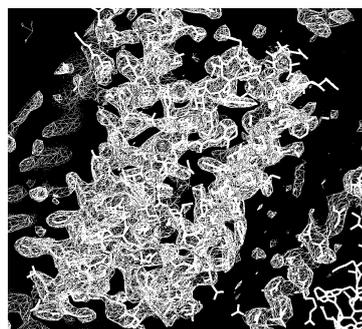


図 2 : TR の電子密度

4 まとめ

TR の結晶化を行い, 分子置換法により初期位相を決定した.

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