

(様式 1-2)

提出日：2020 年 月 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名		紫外光受容型新規微生物型ロドプシンの構造解析	
研究代表者	氏名	神取 秀樹	
	所属機関名・部局名	名古屋工業大学、生命・応用化学科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		<input type="radio"/>	共同研究員
		<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題
		<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		<input type="radio"/>	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		中川 敦史	
<p>本研究では、紫外光吸収型新規微生物型ロドプシン、TAT 型ロドプシンに対する、X 線結晶構造解析を中心とした構造解析により、既存のロドプシンとは大きく異なる光化学的性質を実現する構造基盤を明らかにすることに取り組んだ。我々は最近、TAT 型ロドプシンが中性 pH 付近に発色団レチナールシッフ塩基の pKa が存在することを見出し、生理条件下（海の pH:7~8）においてプロトン化型と脱プロトン化型の 2 状態を有することを示した。また、2 状態における光化学的性質として、プロトン化状態については、マイクロ秒以降で過渡吸収変化が一切観測されなかったのに対し (Kataoka et al. <i>J. Phys. Chem. Lett.</i> 2019)、脱プロトン化状態では、過渡吸収変化が観測された。つまりこの結果は、「TAT 型ロドプシンが紫外光を受容して何かしらの機能を発現している」という仮説を立て、TAT 型ロドプシンの 2 状態の X 線結晶構造解析を実施した。中性 pH (8) において精製した TAT 型ロドプシンと脂質モノオレインを混ぜることで透明な混合溶液の作製を確認し、適切な LCP への TAT 型ロドプシンの再構成を完了させた。結晶ドロップ中での良好な結晶成長が確認できなかったが、これはプロトン化型と脱プロトン化型の 2 状態による不均一性が成長を妨げたと考えられる。</p> <p>そこで、部位特異的変異および、その組換えタンパク質に対する分光学的アプローチを駆使することで、プロトン化・脱プロトン化、2 状態を決めるアミノ酸の同定に成功した。さらに、変異により安定化されたプロトン化状態に対し過渡吸収分光測定を行った結果、マイクロ秒以降での過渡吸収変化が観測され、このアミノ酸が既存のロドプシンと大きく異なる光化学的性質を実現する要因の一つであることを見出した。今後は、TAT 型ロドプシン変異体に対する構造決定に向けた X 線結晶構造解析を先行させていく。</p> <p>このように、貴拠点事業によって申請研究課題の実現に向けて、X 線結晶構造解析を中心とした構造解析だけでなく、分光測定や機能解析（イオン輸送評価など）を駆使することで、構造・機能相関研究を強力に推進させることができた。</p>			