光駆動プロトンポンプ GR のプロトン輸送を誘起する発色団-オプシン相互作用

（阪大院理 [1]・名工大院工 [2]）○塩谷 智巳 [1]・水野 操 [1]・神取 秀樹 [2]・水谷 泰久 [1]
Interaction between retinal chromophore and opsin to enable proton transport in a light-driven proton pump GR ([1]*Graduate School of Science, Osaka University.*, [2]*Department of Life Science and Applied Chemistry, Nagoya Institute of Technology*) ○ Tomomi Shionoya,[1] Misao Mizuno,[1] Hideki Kandori,[2] Yasuhisa Mizutani [1]

Gloeobacter rhodopsin (GR) is a light-driven proton pump discovered from bacteria. GR has a retinal chromophore inside seven transmembrane α-helices. Photoisomerization of the retinal chromophore facilitates proton transport. We previously found that the substitution of Trp222 residue, which contacts to the chromophore, to Phe reduced the proton pump activity to 9% of that for WT. In this study, we revealed the retinal chromophore structure of W222F changed similarly to that of WT using time-resolved visible resonance Raman (RR) spectroscopy. Based on the structural and assay data, we discuss the mechanism of the proton transport.

Keywords : resonance Raman Spectroscopy; retinal protein; ion pump activity

グロイオバクターロドプシン（GR）は、光駆動プロトンポンプである。GR では、タンパク質内部のレチナール発色団の光異性化に誘起されてプロトン移動が起きる。私たちはこれまでの研究で、Trp222 残基を Phe に置換した W222F 変異体では、プロトン輸送活性が 9%に低下すること見出した。そこで本研究では、時間分解共鳴ラマンスペクトルから、発色団の構造変化と、オプシンとの相互作用について議論した。

試料は、大腸菌に発現させたタンパク質を可溶化・精製し、調製した。ラマン測定には、波長 532 nm のポンプ光と、波長 475 nm のプローブ光を用い、50 ns-100 μs の範囲で時間分解共鳴ラマンスペクトルを得た。

Figure 1 に、WT と W222F 変異体の未反応状態および光励起後 100 μs における C–C 伸縮振動バンド領域の可視共鳴ラマンスペクトルを示す。WT と変異体とともに、未反応状態柄では~1200 cm^{-1}、100 μs では 1185 cm^{-1} にバンドが観測された。前者は all-*trans* 形、後者は 13-*cis* 形を示すマーカーバンドである。この結果から、変異体は WT と同様に all-*trans* 形から 13-*cis* 形へ光異性化を起こすことが明らかになった。

W222F 変異体において、発色団が WT と同様な構造変化をするにもかかわらずプロトン輸送活性が大きく低下するという事実は、発色団の構造変化が Trp222 残基との接触を介してオプシンと相互作用し、プロトン輸送を誘起することを示唆している。

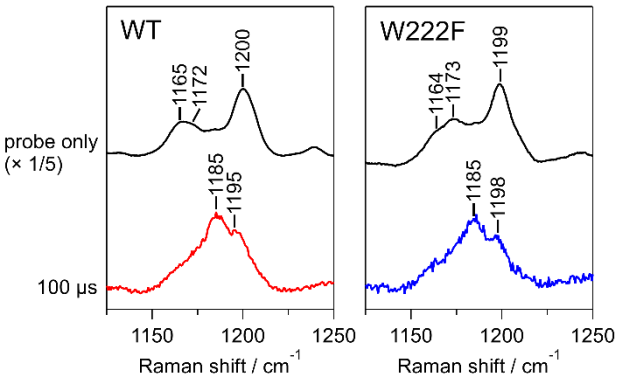

Figure 1. Resonance Raman spectra of WT (left) and the W222F mutant (right) of GR in the C–C stretch region. Upper and lower traces in each panel represent the spectrum of the unphotolyzed state and time-resolved spectra at 100 μs, respectively.

© The Chemical Society of Japan