

ナトリウムイオン輸送タンパク質の多量体形成に依存した分子内水素結合変化

(阪大理¹、阪大院理²、名工大院工³) ○中村 大輝¹・水野 操²・大友 章裕²・神取 秀樹³・水谷 泰久²

Alternation of Intramolecular Hydrogen-Bonding Network Dependent on Oligomeric States of a Sodium Ion-Pumping Protein (¹*School of Science, Osaka University*, ²*Graduate School of Science, Osaka University*, ³*Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology*)
○Taiki Nakamura,¹ Misao Mizuno,² Akihiro Otomo,² Hideki Kandori,³ Yasuhisa Mizutani²

Krokinobacter rhodopsin 2 (KR2) transports a sodium ion across the cell membrane triggered by photoreaction of a retinal chromophore. KR2 forms a pentamer and possesses an ion-binding site at the subunit interface.¹⁾ We previously demonstrated that binding of the sodium ion to KR2 affects the structure of the protein moiety around the protonated Schiff base (PSB) of the chromophore and the stability of the oligomeric structure using resonance Raman spectroscopy.²⁾ We also reported an unprecedented deuteration effect in the C=N stretching Raman band of the PSB in KR2.³⁾ In this study, we investigated the protein structure of KR2 solubilized in micelles and that embedded in nanodiscs, that were composed of phospholipid bilayer and membrane scaffold protein, in the absence of sodium ion. Different deuteration effects were observed for the C=N stretching Raman band of the PSB in the two conditions. Circular dichroism observations identified that KR2 is in a monomer in micelles and in a pentamer in nanodiscs. The present observations suggest that the hydrogen-bonding network of the PSB in the chromophore depended on the oligomeric states of the protein.

Keywords: *Rhodopsin; Resonance Raman spectroscopy; hydrogen bond; Nanodisc*

Krokinobacter rhodopsin 2 (KR2) は、レチナル発色団の光反応をトリガーとしてナトリウムイオンを輸送する膜タンパク質である。KR2 は五量体を形成し、サブユニット界面にナトリウムイオンの結合サイトを持つ¹⁾。結合サイトへのナトリウムイオンの結合は、発色団のプロトン化シッフ塩基 (PSB) 周辺構造および会合状態の安定性に影響を与える²⁾。私たちは以前、KR2 の PSB による C=N 伸縮振動バンドが、他の微生物ロドプシンとは異なる重水素効果を示すことを発見した³⁾。本研究では、ナトリウムイオン非存在下で、ミセル中、および脂質二重膜環境を再現したナノディスク中において、KR2 のタンパク質構造を比較した。発色団の共鳴ラマンスペクトルを比較した結果、PSB の C=N 伸縮振動バンドは、ミセル中とナノディスク中とで異なる重水素効果を示すことがわかった。これは、PSB における水素結合様式がミセル中とナノディスク中で異なることを意味している。また、円偏光二色性測定から、タンパク質はミセル中では単量体、ナノディスク中では五量体であると同定された。これらの結果から、タンパク質の会合状態の違いによって PSB の水素結合様式が異なることが示唆された。

1) I. Gushchin, et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2015, 22, 390-395. 2) A. Otomo, et al., *Biochemistry* 2020, 59, 520-529. 3) 篠崎ら, 日本化学会第 100 春季年会要旨集, 2020, 2B2-15.