

内向きプロトンポンプシゾロドプシンにみられる複数のM中間体の発色団構造解析

(阪大理¹・阪大院理²・名工大院工³) ○林航平¹・水野操²・神取秀樹³・水谷泰久²

Structural analysis of the chromophore in multiple M intermediates of an inward proton pump Schizorhodopsin

(¹School of Science, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³Nagoya Institute of Technology) ○ Kouhei Hayashi,¹ Misao Mizuno,² Hideki Kandori,³ Yasuhisa Mizutani²

Schizorhodopsins (SzRs) transport protons from the outside of the cell to cytoplasm in contrast to typical outward proton-pumping rhodopsins. To reveal determining factors of the proton-transport direction, it is essential to understand the chromophore structure of photointermediates. The photocycle of SzRs is known to involve multiple M intermediates. In this study, we observed resonance Raman spectra of the two M intermediates of SzR4. Our observations indicate that the retinal chromophore of SzR4 is reisomerized in prior to the reprotonation of the Schiff base, which has been never observed for the photocycles of ion-pumping rhodopsins to date.

Keywords : Resonance Raman spectroscopy; Retinal protein; Proton transfer;

シゾロドプシン (SzR) は、レチナール発色団の光吸収によって細胞外から細胞質へ内向きにプロトンを輸送する光受容タンパク質である。従来のロドプシンはプロトン輸送方向が外向きであり、SzRは逆向きの特徴をもつ。プロトン輸送方向を決定する因子を明らかにする上で、反応中間体構造の解明が重要である。これまでに、SzRには複数のM中間体が存在することが報告されている¹。本研究では、SzR4について時間分解共鳴ラマンスペクトルを測定し、M中間体におけるレチナール発色団の構造を調べた。

時間分解共鳴ラマンスペクトルには、2種類のスペクトル成分が観測された。ラマンバンドが現れる時間帯から、これらをM₂、M₃中間体のものと帰属した。得られたM₂とM₃中間体の共鳴ラマンスペクトルを図1に示す。C=N伸縮振動バンドは、M₂中間体では1616 cm⁻¹、M₃中間体では1615 cm⁻¹に観測された。これらのバンドは重水中ではシフトしなかった。したがって、レチナール発色団の Schiff 塩基は、M₂、M₃中間体で脱プロトン化していることが分かった。また、C-C伸縮振動バンドは、M₂中間体では1176 cm⁻¹に現れ、13シス形のレチナールに特徴的なバンドの形状を示した。一方、M₃中間体では1165 cm⁻¹、1201 cm⁻¹にピークを持つ2本のバンドが観測された。この特徴は、全トランス形で脱プロトン化した発色団を持つタンパク質およびモデル化合物の共鳴ラマンスペクトルにも観測され、M₃中間体が全トランス形であることを示している。このことからSzR4の発色団はSchiff塩基が再プロトン化するより前に全トランス形へと再異性化していることが明らかになった。従来の微生物ロドプシンでは、再プロトン化の後に再異性化が起こり、逆の順序が観測されたのはSzR4が初めての例である。

1) A. Higuchi, et.al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2021**, *118*, e2016328118.

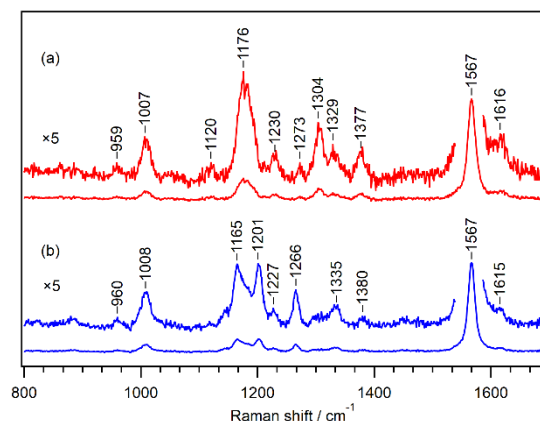


図1. SzR4のM中間体の共鳴ラマンスペクトル (ポンプ光 532 nm, プローブ光 405 nm). (a) M₂中間体 (遅延時間 500 μs から 15 ms の寄与を引いた), (b) M₃中間体 (遅延時間 15 ms).