

1 H1a 膜タンパク質の二次元結晶化にともなう構造とダイナミクス変化

姫路工大院理¹、広島大量子生命²、横浜国大院工³
山本和俊¹・辻暁¹・○斉藤肇²・川村出³・内藤晶³

膜タンパク質は細胞膜中にあり、細胞外部からの光や化学信号の認識と受容、その情報の細胞内部への伝達、プロトン、イオンなどの物質輸送、酵素としての反応触媒など、数多くの局面で重要な役割をはたしている。それらの機能の理解には、三次元構造とダイナミクスの両面からの知識が必要とはいえ、同時に得ることが困難である。すなわち、分子に揺らぎがあればX線回折などによる三次元構造は、ぼやけるか消滅してしまう。実際、膜タンパク質は生理的条件下では、脂質二重相といういわば油の中にあり、低温X線回折から理解しがちな剛体としての描像とは程遠い。紫膜のバクテリオロドプシン (bR) は、三量体構造を単位とする天然の二次元結晶である。大量発現の容易さから bR は典型的膜タンパク質として、G タンパク質共役型受容体 (GPCR) と同様の7本の α ヘリックスからなるモデル系である。

われわれは、 ^{13}C 標識 bR の動的構造を ^{13}C 固体高分解能 NMR によって検討し、膜貫通ヘリックス、表面ループ、C 末端部位が、それぞれ異なる周波数で揺らぐ不均一構造であると提唱した。しかし、膜タンパク質は必ずしも二次元結晶をとると限らず、界面活性剤中や脂質二重相に再構成した場合は、単量体として扱わなければならない。そこで bR および変異株について、単量体と二次元結晶におけるスペクトルを比較し、二次元結晶の生成がタンパク質構造とダイナミクスにどのような影響を与えるかを調べた。図1に示すように、 $[3\text{-}^{13}\text{C}]\text{Ala}$ -標識野生株 bR の ^{13}C NMR スペクトルは、二次元結晶 (D) に比べて単量体 (C) の場合、プロトンデカップリング周波数すなわち 10^5Hz に近い揺らぎが生じ、一部の膜貫通ヘリックスおよびループ信号が完全に消滅することがわかる。また、D85N の中性 (B) および光サイクルの M 中間体様構造をとる pH 10 (A) では動的構造変化のために、二次元結晶中では野生株に比べて顕著なスペクトル変化をもたらすが、単量体ではその差は現れていない。この点は bR に限らず種々の膜タンパク質の脂質二重相への再構成系を部位特異固体高分解能 NMR により検討する場合、常に考慮する必要がある。一方、 $[1\text{-}^{13}\text{C}]\text{Val}$ 標識 bR を対象にする場合、 10^5Hz の揺らぎによっても信号が消滅せず、三量体構造におけるヘリックス-ヘリックス相互作用の有無によって、膜貫通ヘリックスおよびループにおける構造変化が明瞭に調べられる。このような骨格構造およびその揺らぎの意義、およびタンパク質-タンパク質、タンパク質-脂質相互作用によってうける変調は、bR のみならず、光走行性を制御するセンサーロドプシン、そのトランスデューサータンパク質との複合体、大腸酵素ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) など、多くの膜タンパク質系に共通する性質であることが明らかになった。

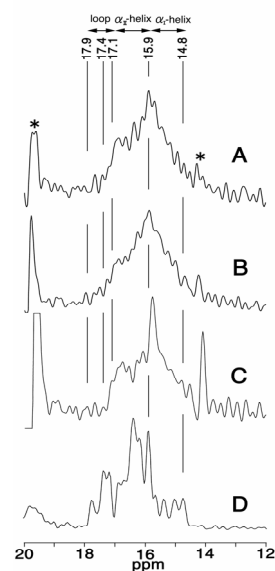


図1 $[3\text{-}^{13}\text{C}]\text{Ala}$ -bR、変異体の ^{13}C 固体高分解能 NMR