

1G1a 固体¹³C NMRによる膜蛋白質のおそい揺らぎの検出とその意義

広島大学量子生命科学プロジェクトセンター

○齊藤 肇

膜蛋白質といえども生理的条件では十分な水和状態になければならず、膜貫通 α ヘリックス部位が室温においては流動性が高い脂質二重膜にある一方、N-、C-末端やループなど表面にある部位は水層に露出してさらに揺らぎが大きいなど、部位によって大きく異なった環境にある。演者らは固体高分解能¹³C NMRスペクトルから、典型的な膜蛋白質である高度好塩菌からのバクテリオロドプシン (bR) は、紫膜として知られている2次元 (2D) 結晶構造とはいえ、低温X線回折から得られる rigid な構造ではなく、揺らぎの相関時間が 10^{-2} から 10^{-8} 秒と部位によって大きく異なる、柔らかな構造であることを明らかにした。特に、ミリ秒からマイクロ秒の時間尺度を持つおそい揺らぎ ($10^{-4}\sim 10^{-5}$ s) の存在は、この蛋白質の光反応過程に生じる骨格のコンホメーションおよびダイナミクス変化が、その機能の発揮に重要な意味をもつことを示した。

特に、ハロバクテリア特有の脂質との相互作用2D結晶の安定化に寄与しており、そこに変調をもたらすW12LやW80LなどのbR変異株は3量体構造ひいては2D結晶をとることができず、単量体構造にとどまる。bRの脂質二重膜への再構成試料も、室温においては2D構造をとることができない。実際、特異な脂質-蛋白質相互作用の変調により、ヘリックスのパッキングに重要な蛋白質-蛋白質相互作用が抑制され、膜貫通 α ヘリックスの揺らぎの相関時間が2D結晶の 10^{-2} sから、単量体として 10^{-4} sに揺らぎが増大する。同様に、D85Nの光反応のM様中間体では、相互の電荷の消失によりヘリックスパッキングの安定化を促進するシッフ塩基とAsp85の静電相互作用が欠如する。そのため、膜貫通ヘリックスの揺らぎが 10^{-4} s程度までに増大する。ヘリックス間のパッキングに寄与するレチナルを除去したバクテリオオプシン (bO) も、同様の効果がみられる。当然、膜貫通ヘリックス構造の揺らぎの変調は、膜表層にあるループ構造のダイナミクスにも影響を与える。

このようなおそい揺らぎの検出に、[3-¹³C]Ala および[1-¹³C]Val 標識膜蛋白質のみならず強い相互作用を持つ脂質の信号が、それらの揺らぎの周波数が $10^4\sim 10^5$ Hzとなり、プロトンデカップリングあるいはマジック角回転周波数との干渉をおこし、信号のブロードニングまたは消滅させる現象を利用する。一方、単量体ではbRとD85NのM様中間体の¹³Cスペクトルのように、両者の間の大きなコンホメーションおよびダイナミクス変化にもかかわらず、ほぼ同様の信号を呈する。これは、反応中間体において期待されるコンホメーション変化とほぼ同じ変化が単量体化で実現していることを示している。逆にいえば、そのような変化が光反応に必須であることを示している点で極めて興味深い。同様のおそい揺らぎがホロドプシン、そのトランスデューサー、そのほかの膜蛋白質でもみられ、生理活性との関連で興味深い。