膜タンパク質HRの光駆動Clポンプ機能
HRの３量体形成から何がわかるか？

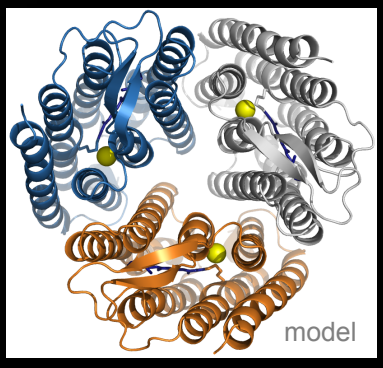
北海道大学
先端生命科学研究院
生物情報解析科学研空室
出村　誠
http://www.lfsci.hokudai.ac.jp/labs/infana/

2010.6

ハロロドプシン（HR）はバクテリオロドプシン（BR）と同様に高度好塩古細菌から見いだされた７回膜貫通レチナールタンパク質である。ヒトの目にあるロドプシンと同じように波長制御された光を感じるとレチナールが光異性化する。この光エネルギーで駆動されるイオンポンプ機能はHRとBRで同じであるが、前者はClアニオン、後者はプロトンと電荷が異なるイオン種を選択的に輸送する点でイオン輸送機構が大きく異なると予想されている。一方、高度好塩古細菌のゲノム解析も進みつつある。これまで２種類の古細菌*H.salinarum*と*N.pharaonis*由来のHR（それぞれHsHRとNpHR）について、機能・構造研究が主に進んでいる。最近、NpHRのOptogeneticsへの応用が進み、神経科学分野でも光誘起細胞電位に利用され始めた[1]。HsHRとNpHRは配列完全一致度55%、類似性84%であり、若干の機能差もわかっている。しかしHRが示す「Clポンプの分子機構の本質」は未解明である。

大腸菌発現系で調製したHRは大腸菌内膜に組み込まれ、「紫色の大腸菌」が得られる。HRを可溶化・精製すると活性型として実験に十分量が得られる。さまざまな可溶化系を検討した結果、HsHRとNpHRが３量体で保持される条件がゲルろ過クロマトフラフィー、化学架橋、電気泳動、質量分析、CDからわかってきた。さらにCl濃度、温度など可溶化条件を制御すると、単量体化できるもわかってきた。HRの３量体構造が古細菌膜や大腸菌内膜上でも形成されていることが明らかになったことから、可溶化によって得られた３量体は天然の四次構造に由来する [2, 3]。

イオンポンプ機能をもつHRとBR、光情報伝達センサーロドプシンsRII、これらはすべて同じ７TMファミリーで主鎖の立体構造がほとんど重なる。しかしHR、BRがホモ３量体を形成できるのに対し、sRIIは３量体を形成できない。ではHR３量体が形成できるファクターは何なのか。イオンポンプ機能と３量体形成には何かしら相関があるのであろうか。これまでの成果をもとに、今後、光駆動イオンポンプ活性、励起構造（光中間体）などHRをモデルとした膜タンパク質複合体の構造ダイナミクスと機能変調について研究展開できれば、新たなアプリケーションの道も拓けるであろう。



[1] Gradinaru *et al., Cell,* 2010,141, pp154-165
[2] Sasaki *et al., Biochemistry,* 2009, 48, pp 12089–12095
[3] Sasaki *et al., Photochemistry and Photobiology,* 2009, 85, pp 130 - 136